

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PATRICIA LODÉA

**CONTAGEM BACTERIANA EM FILÉ DE PEITO DE FRANGO
APÓS O SISTEMA DE RESFRIAMENTO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA
2017

PATRICIA LODÉA

**CONTAGEM BACTERIANA EM FILÉ DE PEITO DE FRANGO
APÓS O SISTEMA DE RESFRIAMENTO**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Machado-Lunkes
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Andréa Cátia Leal Badaró

LONDRINA
2017

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

L821c Lodéa, Patricia

Contagem bacteriana em filé de peito de frango após o sistema de resfriamento / Patricia Lodéa. - Londrina : [s.n.], 2017.

70 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Prof^a Dr^a Alessandra Machado-Lunkes

Coorientadora: Prof^a Dr^a Andréa Cátia Leal Badaró

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2017.

Bibliografia: f. 45-55.

1. Frango de corte. 2. Micro-organismos - Contagem. 3. Segurança alimentar.
I. Machado-Lunkes, Alessandra, orient. II. Badaró, Andréa Cátia Leal, coorient.
III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação
em Tecnologia de Alimentos. V. Título.

CDD: 664

TERMO DE APROVAÇÃO

CONTAGEM BACTERIANA EM FILÉ DE PEITO DE FRANGO APÓS O SISTEMA DE RESFRIAMENTO

por

PATRICIA LODÉA

Esta dissertação foi apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTAL – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Câmpus Londrina, às 9 h do dia 17 de fevereiro de 2017. O trabalho foi aprovado pela Banca Examinadora, composta por:

Dr^a. Alessandra Machado-Lunkes
Prof.^a Orientadora
UTFPR Câmpus Francisco Beltrão

Prof.^a Dr.^a Kérley Braga Pereira Bento
Casaril
Membro Titular
UNIOESTE Câmpus Francisco Beltrão

Dr^a. Cleusa Inês Weber
Membro Titular
UTFPR Câmpus Francisco Beltrão

Visto da coordenação:

Prof. Dr. Fábio Augusto Garcia Coró
(Coordenador do PPGTAL)

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos.

Dedico este trabalho à minha família, meu marido e meus colegas de trabalho, pelos momentos de ausência, pela paciência, apoio e entendimento do pouco tempo a eles dedicado neste período.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela oportunidade de poder cursar o mestrado, o qual me oportunizou novas experiências, conhecimentos e amizades.

À empresa onde trabalho, pela oportunidade e incentivo concedido, além do apoio prestado. Estendo também meus agradecimentos ao meu gerente o qual possibilitou minha ausência para cumprir a carga letiva exigida pelo mestrado, bem como me permitiu todas as condições para a realização do trabalho, desde recursos financeiros e auxílio técnico. Agradeço também aos meus colegas de trabalho pelo apoio e ajuda prestada neste período.

Agradeço à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, à Coordenação do Curso de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos e a todo o corpo docente do Campus de Francisco Beltrão. Em especial, com destaque à minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Alessandra Machado-Lunkes, por todo o apoio, carinho e atenção dados, pois foi através dela que esta etapa foi essencial e possível. Agradeço também a coorientadora, Profa. Dr.^a. Andréa Cátia Leal Badaró, pelo suporte técnico prestado. Às professoras Dr.^a Elisabete Hiromi Hashimoto e Dr.^a. Cleusa Inês Weber pelas contribuições dadas no exame de qualificação.

Também não poderia deixar de agradecer aos meus colegas de mestrado, pois com eles, as aulas tiveram discussões técnicas, além de chimarrão e boas conversas. Agradeço em especial à Janaina, que além de colega de mestrado, companheira de hotel, foi a pessoa em quem sempre me apoiei nos momentos mais difíceis.

Em especial, agradeço ao meu marido e familiares, os quais entenderam minha ausência e o pouco tempo a eles dedicado.

RESUMO

LODÉA, Patricia. **Contagem bacteriana em filé de peito de frango após o sistema de resfriamento**. 2017. 70f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2017.

Atualmente, o Brasil está entre os principais produtores mundiais de carne de frango e, também, o principal exportador desta fonte proteica. A indústria avícola tem investido conhecimento e recursos no controle microbiológico de seus produtos, buscando garantir a segurança dos alimentos. Assim, este trabalho teve como objetivo quantificar *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e determinar a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em peito de frango após o sistema de resfriamento a 4 e 7 °C. O produto foi obtido em um abatedouro do Oeste Catarinense e as análises microbiológicas foram realizadas segundo protocolos internacionais. O pH e atividade de água (Aa) também foram avaliados. Para carcaças que saíram a 4 °C, 95,83 e 97,92 % das amostras apresentaram contagem abaixo de 10 UFC/g para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. Quando resfriadas à 7 °C, 92,71 e 86,46 % apresentaram este nível de contagem. As maiores contagens de *E. coli* e *S. aureus* foram 40 e 70 log UFC/g, respectivamente. *L. monocytogenes* não esteve presente em nenhuma das amostras avaliadas. Os resultados sugeriram que as temperaturas do sistema de resfriamento não influenciaram na contagem microbiológica. Já pH e Aa diferiram estatisticamente quando o sistema de resfriamento operou a 4 ou 7 °C, porém não influenciou os resultados microbiológicos.

Palavras-chave: Abatedouro. Frango. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. *Listeria monocytogenes*.

ABSTRACT

LODÉA, Patricia. **Bacterial count on chicken breast fillet after the chilling system.** 2017. 70f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) – Federal Technology University – Parana. Londrina, 2017.

Currently, Brazil is among the world's leading producers of chicken meat and has also become the main exporter of this protein source. The poultry industry has invested knowledge and resources for the microbiological control of its products, seeking to ensure food safety. Thus, the objective of this study was to quantify *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, and to determine the occurrence of *Listeria monocytogenes* in chicken breast after the cooling system at 4 and 7 ° C. The product was obtained from a slaughterhouse in west of Santa Catarina and the microbiological analyzes were performed according to international protocols. The pH and water activity were also evaluated. For carcasses that left at 4 ° C, 95.83 and 97.92 % of the samples presented counts below 10 CFU/g for *E. coli* and *S. aureus*, respectively. When cooled to 7 ° C, 92.71 and 86.46 % presented this level of counting. The highest counts of *E. coli* and *S. aureus* were 40 and 70 log CFU/g, respectively. *L. monocytogenes* was not present in any of the samples evaluated. The results suggested that the cooling system temperatures did not influence microbiological counting. The pH and water activity (a_w) differed statistically when the cooling system operated at 4 or 7 °C, however did not influence microbiological results.

Keywords: Slaughter. Chicken. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. *Listeria monocytogenes*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Maiores produtores e exportadores de carne de aves.....	16
Figura 2 – Principais estados que abatem e exportação carne de aves no Brasil.....	18
Figura 3 – Fluxograma do processo de abate de frango, localização dos PCC's e local de coleta das amostras.....	37
Figura 4 – Controle do sistema de resfriamento de carcaças a 7 °C.....	64
Figura 5 – Controle do sistema de resfriamento de carcaças a 4 °C.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Origens dos patógenos alimentares.....	24
Tabela 2 – Condições para multiplicação de <i>Staphylococcus aureus</i> e produção de toxinas.....	33
Tabela 3 – Dados dos lotes usados para avaliação do sistema de resfriamento, análises microbiológicas e análises físico-químicas a 4 e 7 °C.....	38
Tabela 4 – Quantidade de amostras coletadas para análise microbiológica e de mensuração de temperatura nas carcaças após sistema de resfriamento a 4 e 7 °C.....	39
Tabela 5 – Quantidade de amostras coletadas para análise físico-químicas de pH e Aa após sistema de resfriamento a 4 e 7 °C.....	40
Tabela 6 – Temperatura de coleta e frequência dos intervalos de contagem de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> para sistema de resfriamento operando a 7 °C (n=96).....	60
Tabela 7 – Temperatura de coleta e frequência dos intervalos de contagem de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> para sistema de resfriamento operando a 4 °C (n=144)	61
Tabela 8 – Média e desvio padrão para pH e Aa em lotes de aves	63

LISTA DE ABREVIATURAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
APT	Água Peptonada
Aa	atividade de água
a_w	water activity
EFSA	European Food Safety Authority
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points
LMO	<i>Listeria monocytogenes</i>
PCC	Ponto Crítico de Controle
UBABEF	União Brasileira de Avicultura

LISTA DE SIGLAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
SIF	Serviço de Inspeção Federal

LISTA DE ACRÔNIMOS

CODEX	Codex Alimentarius
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE CARNE DE FRANGO.....	16
3.2 ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE (APPCC) NA PRODUÇÃO DE CARNE DE FRANGO.....	18
3.3 MICRORGANISMOS NA LINHA DE ABATE DE FRANGOS.....	21
3.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	24
3.5 <i>Escherichia coli</i>	28
3.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	32
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1 MATERIAL.....	38
4.1.2 Amostragem.....	38
4.2 MÉTODOS.....	41
4.2.1 Análise microbiológica	41
4.2.1.1 Quantificação de <i>Staphylococcus aureus</i>	41
4.2.1.2 Determinação da prevalência de <i>Listeria monocytogenes</i>	41
4.2.1.3 Quantificação de <i>Escherichia coli</i>	42
4.2.2 Análises Fisico-químicas.....	43
4.3 TRATAMENTO DOS DADOS.....	43
4.3.1 Análise da eficiência do sistema de resfriamento.....	43
4.3.2 Análise dos dados microbiológicos e químicos.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
ARTIGO	58
5. CONSIDRAÇÕES FINAIS	70

1 INTRODUÇÃO

Grande parte da população mundial dá muita importância para a carne na composição das suas refeições, sendo esta um dos principais alimentos que compõem a mesa de muitas famílias (RIBEIRO, CORÇÃO, 2013). Neste contexto, a produção e comercialização de carne e, especificamente a carne de frango ocupa as primeiras posições no ranking do agronegócio brasileiro. O Brasil figura entre os três maiores produtores e exportadores de carne de frango (AVISITE, 2015; BRASIL, 2016a; BRASIL, 2016b). No território nacional o estado de Santa Catarina desde 2014 tem mantido a segunda colocação para a produção deste gênero alimentício (ABPA, 2016).

Tendo em vista a representatividade deste setor no mercado brasileiro e mundial, as perdas de produtividade na linha de abate da indústria avícola são cada vez mais contabilizadas de modo a reduzir gastos e aumentar a rentabilidade (RODRIGUES et al., 2013; SILVA, VIEIRA, 2010). Desta forma, medidas preventivas são adotadas para reduzir estas perdas com ações relacionadas à qualidade do lote no abate, ajustes relacionados às variáveis de tempo, temperatura ou equipamentos do processo de abate (MILIOS; DROSINOS; ZOIOPOULOS, 2014). Outra medida preventiva é o controle de tempo e temperatura do produto na entrada do túnel de congelamento, a qual é realizada através de um PCC (Ponto Crítico de Controle) (BRASIL, 2006). Na empresa onde o estudo foi realizado, este controle é feito através do PCC 3, o qual controla a temperatura do produto na entrada da etapa de congelamento e o tempo que este leva para atingir 4 °C.

Uma das ferramentas que pode auxiliar na gestão e levar à melhoria do processo produtivo, garantindo a segurança química, física e microbiológica dentro das indústrias frigoríficas é o APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) (MILIOS; DROSINOS; ZOIOPOULOS, 2014).

Na linha de abate de frangos, dentre as várias etapas que compõem o processo, um dos pontos de controle é a redução da temperatura das carcaças na etapa de resfriamento, que por sua vez tem significativo impacto na diminuição da carga microbiana em geral (JAMES et al., 2006; RODRIGUES et

al., 2008). Além disto, existem ambientes de temperatura controlados, como a sala de cortes onde os produtos são manipulados e o túnel de congelamento, onde o produto é congelado de forma a atingir a temperatura estabelecida pelo mercado ao qual é destinado e, também, auxiliar no controle bacteriológico do produto (BRASIL, 1998b). A legislação brasileira estabelece que as carcaças na saída do sistema de resfriamento devem estar com uma temperatura não superior a 7 °C (BRASIL, 1998b). Entretanto, para outros países importadores, como Rússia e China, é necessário que a carne seja resfriada a temperaturas menores ou iguais a 4 °C (BRASIL, 2010).

Contudo, é consenso na indústria avícola que temperaturas menores na saída do sistema de resfriamento elevam os custos devido à maior necessidade de gelo adicionado ao sistema de resfriamento, principalmente para o filé de peito de frango, um dos produtos que levam maior tempo para ter sua temperatura reduzida (BOURROUL, 2006; MAY; RODGERS; WHITE, 1961).

Os desafios microbiológicos enfrentados pelos frigoríficos de aves para garantir a qualidade final dos produtos são numerosos e, poucos trabalhos avaliam a contagem de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, e a ocorrência de *Listeria monocytogenes* após o sistema de resfriamento que opera para produzir filé de peito a 4 ou 7 °C. Ainda, este trabalho tem como intenção contribuir com informações adicionais para um dos Pontos Críticos de Controle das indústrias de abate de frango, o PCC3.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar contagem bacteriana em filé de peito de frango após o sistema de resfriamento operando a 4 e 7 °C.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar *S. aureus* e *E. coli* em amostras em filé de peito resfriadas a 4, 7 e 10 °C na sala de cortes;
- Determinar a ocorrência de *L. monocytogenes* em amostras em filé de peito resfriadas a 4, 7 e 10 °C na sala de cortes;
- Avaliar a eficiência do sistema de resfriamento que opera a 4 e 7 °C;
- Mensurar pH e Aa de amostras de filé de peito resfriadas a 4 e 7 °C.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE CARNE DE FRANGO

Dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura (FAO) confirmam que a carne de aves é a segunda mais consumida no mundo, ficando atrás apenas da carne suína com um consumo de 35 e 36 %, respectivamente (FAO, 2016). Desde 2014, a produção mundial de carne de frango apresentou um aumento de 2,4 % e os Estados Unidos ocupa o lugar de maior produtor mundial, enquanto o Brasil apresenta-se na segunda posição (Figura 1) (ABPA, 2016; AVEWORLD, 2016; BRASIL, 2016b).

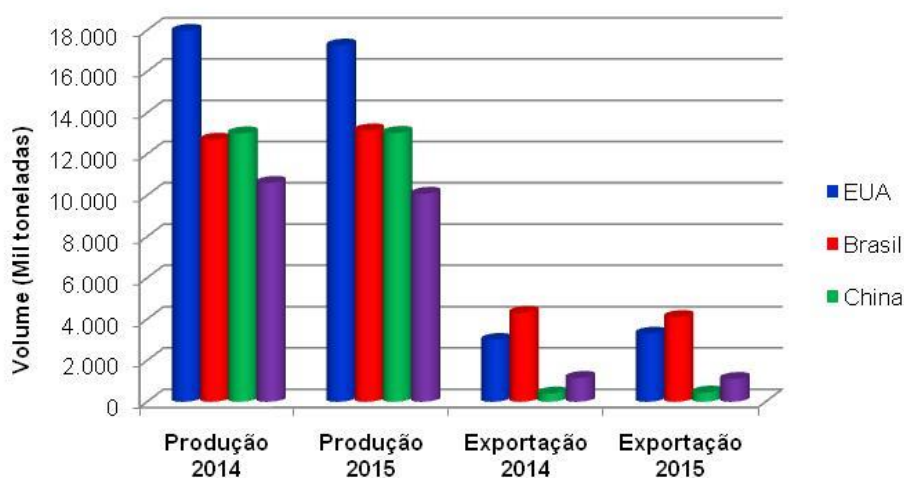


Figura 1 – Maiores produtores exportadores de carne de aves

Fonte: Adaptado de UBABEF, 2016.

O Brasil lidera o ranking de maior exportador mundial de carne de frango cuja produção nacional domina os mais exigentes mercados chegando a 142 países (AVISITE, 2015; BRASIL, 2016a). Destacam-se como os principais importadores da carne de frango brasileira a Federação Russa, a África do

Norte, o Oriente Médio, a China e a União Européia (BRASIL, 2016b; FAO, 2016).

A alta competitividade do setor é justificada pelo aprimoramento da produção, investimento em manejo adequado, sanidade, alimentação balanceada, melhoramento genético e produção integrada (BRASIL, 2016a). Aliado a isto, a produção reduziu custos e melhorou a qualidade dos produtos, fazendo com que eles atendam às exigências dos mercados importadores (BRASIL, 2016a).

Para os próximos anos estima-se um aumento em torno de 35 % na produção de carne de frango (aproximadamente 3 % ao ano) (AVISITE, 2016). Este crescente aumento está relacionado às mudanças na economia nacional e internacional e avigoram a necessidade de modernização dos processos produtivos (MELO; SILVA; ESPERANCINI, 2008).

Com uma produção de 13,14 milhões de toneladas de carne de frango no ano de 2015, o Estado do Paraná figura-se como um dos maiores produtores nacionais (32,46 %). Além disto, este estado também é um dos maiores exportadores da carne de frango do Brasil (35,7 %). O Estado de Santa Catarina é o segundo maior produtor, tendo 16,24 % de produção e exportando 23,30 %, sendo as empresas situadas a Oeste do estado, as maiores exportadoras do Brasil (UBABEF, 2016).

Há ainda que se ressaltar que a importância da avicultura brasileira vai muito além dos altos índices de produção e exportação de aves. Em 2012, segundo informações da União Brasileira de Avicultura (2016), foram gerados em torno de 5 milhões de empregos diretos e indiretos no setor avícola. Além disso, a produção de 12 milhões de toneladas de carne de frango movimentou cerca de 20 bilhões de dólares que representa 1,5 % do PIB nacional. Especificamente, a avicultura catarinense gerou em torno de 80 mil empregos indiretos e 40 mil empregos diretos (UBABEF, 2016).

Na mesa dos consumidores, o setor avícola também possui grande representatividade tendo em vista que nos últimos 5 anos, o consumo *per capita* de carne de frango atingiu um índice médio de 44,04 quilos por

habitante. Este consumo é muito superior quando comparado ao consumo de carne suína (14,82 quilos por habitante) (ABPA, 2016).

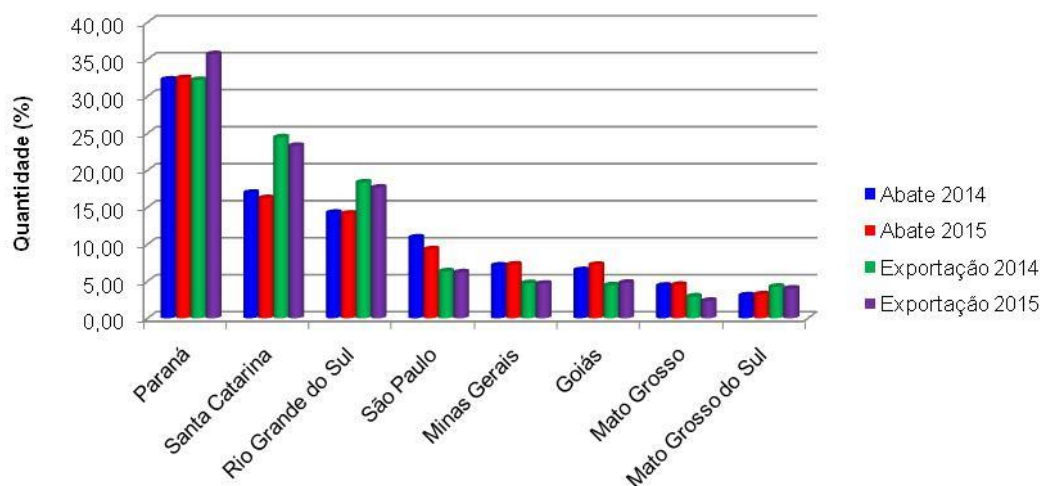


Figura 2 – Principais estados que abatem e exportam carne de aves no Brasil

Fonte: Adaptado de UBABEF, 2016.

3.2 ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE (APPCC) NA PRODUÇÃO DE CARNE DE FRANGO

O programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), do inglês *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP) é uma ferramenta desenvolvida pelo setor privado para que fosse possível garantir a segurança dos alimentos consumidos por astronautas (JOUVE, 1998; ROPKINS; BECK, 2000). Foi apresentada ao público em 1971, na Conferência Nacional para a Proteção dos Alimentos, nos Estados Unidos da América (TONDO; BARTZ, 2014).

A essência do APPCC é que os perigos significativos são identificados e podem ser controlados em um Ponto Crítico de Controle (PCC) (SPERBER, 2005), sendo este um componente comum de sistemas de segurança

alimentar, passando a impor práticas de gestão destinadas a precaução de problema (WANG, YUAN, GALE, 2009).

Nas indústrias alimentícias, o APPCC é implementado a fim de auxiliar o controle dos processos de fabricação, visando a prevenção de problemas ao adotar medidas cabíveis em etapas que podem representar riscos significativos à segurança dos alimentos (BRASIL, 1998a; BUNCIC; SOFOS, 2012; ESCUDERO-GILETE et al., 2007; TRAFIAŁEK et al., 2015). À medida que estas ações são adotadas, torna-se possível a produção de alimentos mais seguros em todas as etapas do processo industrial, de modo que o produto final não apresente riscos ao consumidor (BRASIL, 1998a; BUNCIC; SOFOS, 2012; ESCUDERO-GILETE et al., 2007; TRAFIAŁEK et al., 2015).

A implementação do plano APPCC também é um dos requisitos para a certificação internacional ISO 22.000, tendo em vista que se baseia em normas que combinam elementos essenciais e reconhecidos internacionalmente para garantir a segurança dos alimentos ao longo da cadeia produtiva (ISO, 2017). A importância deste tipo de certificação cresce à medida que as exigências do mercado externo aumentam. O fato dos países em desenvolvimento serem potenciais exportadores de produtos do setor alimentício reforça o uso do plano APPCC como peça fundamental para a segurança do comércio global (PANSIELLO; QUANTICK, 2001). Aliado a isto, a implantação do APPCC confirma o cumprimento aos requisitos regulamentares, estabelecidos pelas legislações vigentes (PANSIELLO; QUANTICK, 2001).

A carne de aves, entretanto, está frequentemente associada à transmissão de doenças causadas por microrganismos patogênicos, mesmo que a tecnologia de abate de animais tenha evoluído significativamente no decorrer dos anos, com adoção de práticas de controle de qualidade de carnes (COX; PAVIC, 2010; HUFFMAM, 2002). No entanto, a indústria frigorífica se esforça constantemente para produzir alimentos com baixa carga microbiana. Isto pode estar relacionado ao processo de fabricação não ser conduzido em ambiente estéril, favorecendo a ocorrência de contaminações por microrganismos e tornando necessária a adoção de práticas que possam evitar

este tipo de inconveniente ou que os mantenham sob controle (COX; PAVIC; 2010; HUFFMAM, 2002).

O abate de aves é um processo composto de diferentes etapas, nas quais são extraídas partes não comestíveis das carcaças, conservando porções comestíveis para disponibilizá-las aos consumidores (SAMS, 2001). É considerado um processo seguro para o consumidor desde que a carne seja manipulada de forma adequada (HUFFMAN, 2002; SVOBODOVÁ et al., 2012). É um processo complexo e problemas com a produção e com a manipulação inadequada dos produtos não são incomuns (BARROS et al., 2007). Diante dos desafios impostos pelo processo de abate, o resfriamento das carcaças de aves em *chiller* é uma das medidas que podem ser utilizadas para reduzir a carga microbiológica (GONZÁLES-MIRET; ESCUDERO-GILETE; HEREDIA, 2006), sendo os controles da temperatura do sistema de resfriamento e da qualidade do ar injetado através dos borbulhos, um PCC (GONZÁLES-MIRET; ESCUDERO-GILETE; HEREDIA, 2006).

O impacto da automatização e a atualização dos sistemas de gestão de alimentos sobre a qualidade microbiológica e segurança dos produtos foi avaliado em um grande frigorífico (TSOLA; DROSINOS; ZOIOPOULOS, 2008). Neste trabalho, a automação da linha de evisceração resultou em redução da contagem coliformes, *E. coli* e *Staphylococcus aureus*, além disso, evidenciou que a carga microbiana das carcaças, após a etapa de refrigeração, mostrou uma redução com a automatização da planta. Dessa forma, foi possível concluir que quanto mais automatizado for um processo, melhores são as condições relacionadas à qualidade sanitária. E quanto menor a manipulação humana, menor é a carga microbiana no produto final desde que as condições dos equipamentos sejam rigorosamente controladas, como regulagem lote a lote, considerando tamanho (peso) das aves, sexagem, idade e jejum alimentar (TSOLA; DROSINOS; ZOIOPOULOS, 2008).

Em um trabalho que comparou a contaminação de microrganismos indicadores incluindo a *E. coli* entre abatedouros de pequeno e grande porte. A presença de *E. coli* foi avaliada em importantes fases da linha de abate: antes da evisceração, depois da evisceração, depois do chuveiro de lavagem e

depois do sistema de resfriamento. Contagens elevadas deste microrganismo foram encontradas no frigorífico com menor capacidade de abate, inclusive após passar pelo sistema de resfriamento. Os autores atribuem este resultado ao fato de o frigorífico com menor capacidade não possuir um programa de APPCC consolidado, o que contribui para o desenvolvimento de microrganismo, haja visto que o APPCC auxilia no controle dos perigos biológicos (MATIAS et al., 2010).

Indústrias que possuem o sistema APPCC implantado, melhoram a segurança dos alimentos. Este fato foi abordado por Saludes, Troncoso, Figueroa (2015), que avaliaram e compararam cepas de *L. monocytogenes* isoladas de 2647 matrizes de alimento e 92 superfícies e equipamentos. Os resultados demonstraram a necessidade de implementar o plano APPCC para melhorar a segurança dos alimentos em seis fábricas avaliadas durante o estudo, tendo em vista que a prevenção é a única maneira de garantir alimentos livres de *L. monocytogenes*. Diante disto, análises microbiológicas devem ser usadas não apenas para controlar os limites de carga microbiana estabelecidos pela legislação, para o produto final, mas também para ajustar e melhorar o processo de fabricação, de modo que permita uma avaliação adequada do processo e de ações preventivas que possam ser tomadas com o intuito de garantir a segurança dos alimentos (MARTINS; GERMANO, 2008).

3.3 MICRORGANISMOS NA LINHA DE ABATE DE FRANGOS

Ainda não existem soluções concretas para evitar a presença de patógenos entéricos nas matérias-primas utilizadas como, por exemplo, a carne crua ou alimentos prontos para o consumo com presença de *L. monocytogenes* (TOMPKIN, 2001). A utilização de microrganismos como indicadores da qualidade microbiológica para avaliar a eficácia das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e do sistema APPCC, é um dos métodos de controle amplamente utilizados pelas indústrias de alimentos (FRANCO;

LANDGRAF, 2005; GONÇALVES et al., 2005; SANTOS et al., 2015). Além disto, as análises microbiológicas em produtos finais são fundamentais para fornecer informações sobre o processo, indicando se está ou não sob controle microbiológico (MATARAGAS et al., 2012).

Os mais desenvolvidos processos industriais têm evidenciado contaminações de carnes por agentes patogênicos, responsáveis pelas doenças de origem alimentar que acometem os consumidores deste tipo de produto (HUFFMAN, 2002; SVOBODOVÁ et al., 2012). À medida que o preparo destes alimentos não é feito de maneira adequada, visto a heterogeneidade da microbiota das aves, os alimentos acabam por serem contaminados devido a práticas inadequadas durante o processo de preparo e cozimento do produto (contaminação cruzada) (HUFFMAN, 2002; SVOBODOVÁ et al., 2012).

Com vistas a isso, estudos que relatem o impacto das diferentes etapas do abate na higiene das carcaças são essenciais para garantir um processo de abate de qualidade (BELLUCO et al., 2016). A sanidade da produção de carnes pode ser garantida de duas formas:

- reduzindo o impacto das etapas de abate em que pode ocorrer aumento de contaminação microbiana através da regulagem de equipamentos evisceradores de acordo com o tamanho (peso) do lote, programação de abate;
- aprimorando as etapas ligadas à redução de contaminação bacteriana (chuveiros de lavagem com pressão e quantidade de água suficiente), de forma que a vida de prateleira do produto seja prolongada à medida que a população de microrganismos patogênicos é reduzida (BELLUCO, et al., 2016).

Características como pH próximo da neutralidade, elevado teor proteico e atividade de água elevada inerentes aos produtos cárneos, contribuem para o aumento da contagem microbiana dos alimentos, tornando-os prejudiciais à saúde do consumidor. Os microrganismos patogênicos, responsáveis pela contaminação, se desenvolvem facilmente nestas condições, representando um grande desafio para as indústrias frigoríficas na busca pela sanidade alimentar de seus produtos (SVOBODOVÁ et al., 2012).

A multiplicação de microrganismos patógenos em carnes, como *L. monocytogenes*, *E. coli* e *S. aureus*, faz com que o consumo de carne de aves de forma inadequada se torne preocupante (FORSYTHE, 2013). Em decorrência desse fato, estudos são realizados a fim de desenvolver métodos que sejam capazes de reduzir a carga microbiana em aves. Um destes métodos é a redução da temperatura das carcaças ao passarem pelo sistema de resfriamento, etapa onde ocorre a redução da carga microbiana, podendo chegar em até $1 \log_{10}$ (BILGILI et al., 2002; ESCUDERO-GILETE; GONZÁLES-MIRET; HEREDIA 2014; GONZÁLES-MIRET; ESCUDERO-GILETE; HEREDIA, 2006; RODRIGUES et al., 2008). No entanto, esta redução só ocorre se os parâmetros de tempo, temperatura e o monitoramento for feito adequadamente (RODRIGUES et al., 2008).

A utilização de medidas como renovação de água, controle adequado de temperatura, tempo de permanência das carcaças dentro do sistema de resfriamento, controle da carga inicial de bactérias (PCC de contaminação – para *E. coli*), melhoram a condição bacteriológica da carne de frango (NORTHCUTT et al., 2006).

O resfriamento das carcaças é utilizado para manter um produto seguro, pois quando se reduz a temperatura da carne, diminui a taxa de multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (JAMES et al., 2006). Em geral, a refrigeração por imersão utilizando água ou água e gelo tende a reduzir o número de microrganismos quando comparado à refrigeração com ar refrigerado ou por pulverização de água refrigerada (JAMES et al., 2006). Todavia, falhas no controle de temperatura do sistema de resfriamento podem provocar uma inconveniente multiplicação microbiana (GONZÁLES-MIRET; ESCUDERO-GILETE; HEREDIA, 2006). Com relação à redução de temperatura de diferentes partes da carcaça de aves, dimensões e condições de operação do sistema de resfriamento (variáveis), há poucos dados publicados (JAMES et al., 2006).

De modo geral, a segurança e a higiene alimentar podem ser avaliadas através da presença de microrganismos indicadores. Este método é comumente utilizado devido à forma fácil e rápida de detecção. Dentre os

microrganismos indicadores mais comuns, podem ser citados os coliformes, *E. coli* e enterobactérias (FORSYTHE, 2013). Vários estudos têm sido realizados para controlar microrganismos patogênicos associados ao consumo de carne (SOFOS, 2008). A Tabela 1 apresenta a incidência dos principais patógenos alimentares em alimentos cárneos e ovos.

Tabela 1 – Origem de patógenos alimentares

Alimento	Patógeno	Incidência (%)
Carne, frango e ovos	<i>Campylobacter jejuni</i>	Frango e peru crus (45-65)
	<i>Salmonella</i> spp.	Frango (40-100), carne suína (3-20), ovos (0,1) e moluscos (16)
	<i>Staphylococcus aureus</i> ^a	Frango (76), carne suína (13-33) e carnes (16) cruas
	<i>Clostridium perfringens</i> ^b	Carne suína e frangos crus (39-45)
	<i>Clostridium Botulinum</i>	
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Carne, carne suína e frangos crus
	<i>Bacillus cereus</i>	Carne moída cru (43-63), carne cozida (22)
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Carne vermelha (75), carne moída (95)
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Carne suína crua (48-49)

^aToxina não destruída pela pasteurização. ^b Formadores de endosporos, não destruídos pela pasteurização.

Fonte: FORSYTHE, 2013 (p.193)

3.4 *Listeria monocytogenes*

Entre os microrganismos patogênicos que podem ser encontrados em carne de aves está a *Listeria* sp., que pode ser a causadora de doenças alimentares, resultando em perdas financeiras e perdas de mercado (RODRIGUES et al., 2013).

Dentre o gênero *Listeria*, a espécie de maior impacto para a saúde pública é *L. monocytogenes*, por ser a mais patogênica, principalmente para

grupos de riscos, como idosos, indivíduos imunocomprometidos e mulheres grávidas (FERREIRA et al., 2014).

A espécie *L. monocytogenes* é subdividida em 13 sorovares, sendo que os mais importantes 1/2-a, 1/2-b e 4-b têm sido responsáveis por grande parte dos casos clínicos em humanos em todo o mundo (LOMONACO; NUCERA; FILIPELLO, 2015).

Listeria sp., incluindo *L. monocytogenes*, é encontrada no ambiente, abrangendo solo, água, esgoto, vegetação, fezes de animais selvagens e em instalações de processamento de alimentos (SAUNDERS; WIEDMANN, 2007; SLUTSKER; SCHUCHAT, 2007).

L. monocytogenes é um bacilo Gram-positivo, não formador de esporo, anaeróbio facultativo. Tem como condições ideais de crescimento o pH variando entre 5 e 9, atividade de água próximo a 0,97 e temperatura variando entre 2,5 e 44 °C (FRANCO; LANDGRAF 2005; LOU; YOUSEF, 1999), podendo se desenvolver em temperaturas variando entre 0 e 42 °C (FORSYTHE, 2013).

Visto a grande capacidade que *L. monocytogenes* possui de sobreviver a baixas temperaturas e em uma ampla faixa de pH, o seu crescimento e desenvolvimento em alimentos e no organismo de hospedeiros são facilitados (KALLIPOLITIS; INGMER, 2001). Esse fato foi confirmado por Guerra e Bernardo (2006) ao evidenciarem a capacidade da *L. monocytogenes* desenvolver-se em condições pouco favoráveis, considerando que o desenvolvimento deste microrganismo está intimamente ligado à composição química do meio, temperatura e pH.

Além disto, tem sido objeto de preocupação constante para as indústrias frigoríficas, devido à sua capacidade de multiplicação em temperaturas de refrigeração, não tendo grandes exigências nutricionais (CASELANI et al., 2013). Este microrganismo resiste a suscetíveis congelamentos e descongelamentos (GERMANO; GERMANO, 2011), sendo uma bactéria resistente também aos efeitos do calor e secagem (FORSYTHE, 2013).

Bacteremia por *L. monocytogenes* em adultos não é incomum. Porém os casos mais preocupantes estão relacionados a pessoas debilitadas ou recém-

nascidos, cujo número de mortalidade se encontra na faixa de 20 a 30 % (HOFFMANN et al., 2012; BARANCELLI et al., 2011; CRUZ; MARTINEZ; DESTRO, 2008; NORRUNG, 2000).

As infecções por *Listeria* ainda estão aumentando na União Europeia, visto que carne de ave é uma fonte significativa de infecção (EFSA, 2015). No Brasil, embora se tenha baixos índices de notificação, a listeriose representa enorme risco à saúde pública, pelo grau de severidade das sequelas (CRUZ; MARTINEZ; DESTRO, 2008).

A manifestação da listeriose na população se dá através da meningite ou meningoencefalite, encefalite e septicemia. Infecta normalmente fígado, baço, fluido cerebral espinhal e sangue sendo os sintomas parecidos com o quadro de pessoas que estão gripadas, incluindo febre, náuseas, vômitos e diarreias (CHEN et al., 2014; GERMANO; GERMANO, 2011). Em mulheres grávidas causa febre e diarreia podendo chegar a causar aborto (MEAD et al., 1999).

Existe ainda, uma preocupação muito grande por parte das autoridades com o envelhecimento da população, pois o indivíduo idoso se torna mais vulnerável à medida que tem sua imunidade diminuída, acabando por ser alvo deste microrganismo (TODD; NOTERMANS, 2011). Os casos mais graves podem ocorrer com indivíduos imunofragilizados, com câncer, portadores de HIV / AIDS e diabetes, pois podem desenvolver meningite e infecções graves que afetam o sistema nervoso (MEAD et al., 1999).

A carne de aves pode ser um veículo de transmissão de bactérias patogênicas envolvidas em surtos de toxinfecções alimentares (CARVALHO et al., 2005). Nos últimos anos, a indústria avícola tem focado seus esforços em prevenir ou reduzir a contaminação por *L. monocytogenes* devido à carne de aves ter sido associada a surtos de listeriose envolvendo produtos cozidos e prontos para consumo contendo especificamente este tipo de carne (BERRANG; LYON; SMITH, 2000).

A contaminação dos alimentos por *L. monocytogenes* pode ser proveniente de matéria-prima contaminada ou de contaminação cruzada durante o processo de produção, processamento e/ou armazenamento (DESTRO, 2006; OSAILI; ALABOUDI; NESIAR, 2011). *L. monocytogenes* pode

se multiplicar nas condições mais adversas, podendo ainda formar biofilmes, o que pode ser um grande problema para as indústrias que produzem alimentos (DESTRO, 2006; McLAUCHLI et al., 2003). Por conta disso, há muitos fatores que precisam ser considerados e incluídos quando se quer projetar uma estratégia efetiva contra *L. monocytogenes*, como por exemplo, uma higienização adequada de máquinas, equipamentos e instalações (aplicação de práticas de limpeza e sanitização), além de um bom plano APPCC (BARBALHO et al., 2005; FOX; WALL, FANNING 2015; GIBBONS et al., 2005).

Barbalho et al. (2005) relataram que a probabilidade das carcaças serem contaminadas aumentou à medida que se avançou as etapas da cadeia de processamento. Neste estudo foram avaliadas amostragens de carcaças em diferentes fases da cadeia produtiva, das mãos dos colaboradores e a água do sistema de resfriamento. A maior prevalência de *L. monocytogenes* foi encontrada após a embalagem (76,2 %). Já para as luvas e mãos dos colaboradores, a prevalência de *Listeria* spp. foi de 46 %, principalmente com *Listeria innocua* (40,5 %) e, posteriormente por *L. monocytogenes* 1b (11,8 %). O único local onde não foi identificada a presença do microrganismo foi na água do sistema de resfriamento. O que pode ter contribuído para isto foi a alta dosagem de cloro na água do sistema de resfriamento (102 a 156 ppm), o que legalmente não é permitido no Brasil. Na presente pesquisa, a quantidade de cloro utilizada no sistema de resfriamento não ultrapassou 0,5 ppm.

Loura, Almeida e Almeida (2005) realizaram um estudo para avaliar onde ocorre a contaminação por *L. monocytogenes* na linha de processamento da carne de peito de frango. Os resultados mostraram a presença do microrganismo nas mãos dos empregados, em mesas e equipamentos. A alta prevalência *L. monocytogenes* pode ser um sinal que as práticas de higiene aplicadas são insuficientes.

A presença de *L. monocytogenes* em alimentos ainda ocorre, contudo os índices atuais são muito menores daqueles encontrados em anos anteriores (BERRANG; LYON; SMITH, 2000). Esta redução pode estar relacionada ao grande avanço que a tecnologia tem proporcionado às indústrias frigoríficas, como progresso de procedimentos e produtos para higienização já citados

anteriormente (BERRANG; LYON; SMITH, 2000). O desenvolvimento de saneantes e de outros sistemas para redução de patógenos, como a cloração de água, influenciaram na crescente eliminação deste patógeno da indústria frigorífica (BERRANG; LYON; SMITH, 2000).

Apesar de *L. monocytogenes* ser um microrganismo muito estudado em países desenvolvidos, no Brasil, é necessária uma maior investigação de modo que os dados obtidos contribuam para caracterizar a patogenicidade deste agente patógeno de acordo com o tipo de hospedeiro e o tipo de ambiente (CRUZ; MATINEZ; DESTRO, 2008).

3.5 *Escherichia coli*

Dentre os microrganismos encontrados em aves está a *E. coli*, que faz parte do grupo dos coliformes termotolerantes, bactéria Gram-negativa, não formadora de endósporos e anaeróbia facultativa, presente em seres humanos e animais (ADAMS; MOSS, 2008; GILL; JONES, 2006; PITOUT, 2012).

A espécie *E. coli* pertence à família *Enterobacteriaceae*, tendo o gênero bacteriano apenas uma espécie e cerca de mil tipos de antígenos (GILL; JONES, 2006; PITOUT, 2012). No intestino, ela suprime bactérias nocivas e auxilia na síntese de diversas vitaminas. Representa 80% da microbiota intestinal aeróbia e, pelo fato de ser eliminada nas fezes, acaba contaminando o solo e a água (GERMANO; GERMANO, 2011).

E. coli desempenha um papel importante dentro das populações de bactérias resistentes e pode ser utilizada como um bioindicador de resistência a antimicrobianos (JIANG, 2011). Pode se desenvolver em temperaturas que variam entre 7 a 50 °C, sendo 37 °C a temperatura ideal. Contudo, esta bactéria pode se multiplicar abaixo de 4 °C, desde que os fatores extrínsecos e intrínsecos estejam próximos da idealidade (ADAMS; MOSS, 2008). Quando o pH está próximo do neutro, o desenvolvimento da *E. coli* é favorecido, podendo

se multiplicar em um pH de 4,9 – 9,0. A atividade de água (Aa) mínima para o desenvolvimento da *E. coli* é 0,935 (FORSYTHE, 2013).

As temperaturas utilizadas dentro de um frigorífico colaboram para o desenvolvimento da *E. coli*, pois a temperatura da carne antes de ser destinada ao congelamento/resfriamento (menor que 10 °C) está dentro da faixa de multiplicação deste microrganismo.

Embora existam muitos tipos antigênicos, uma pequena minoria de cepas é capaz de provocar doenças no homem, sendo as diarreias o sintoma mais comum. Das cepas enterovirulentas de *E. coli*, a que mais preocupa as autoridades de saúde é a *E. coli* O 157:H7, que causa infecção entero-hemorrágica. Sendo assim, quando o homem passa por inúmeras infecções com diferentes tipos da bactéria, ele acaba sendo imune, passando a ser portador de cepas patogênicas, podendo contaminar o ambiente e pessoas suscetíveis (GERMANO; GERMANO, 2011). A subnotificação dos casos de tóxico-infecção causadas por *E. coli* torna difícil o conhecimento a cerca da dimensão destas ocorrências (FORSYTHE, 2013; GERMANO; GERMANO, 2011).

A principal forma de contaminação pode acontecer através de alimentos de origem vegetal e animal, principalmente quando estes não forem bem cozidos ou forem consumidos crus (GERMANO; GERMANO, 2011). Desta forma, o consumo de carne mal cozida e produzida sob condições de higiene inadequadas, podem resultar em contagens microbiológicas elevadas. Esse fato pode causar contaminação dos alimentos quando estes forem ingeridos (TSCHUDIN-SUTTER et al., 2014).

Se o alimento for exposto à contaminação fecal (água contaminada ou por manipulador infectado), ele será capaz de veicular *E. coli*. A água contaminada por esgotos é também uma importante via de contaminação do agente na natureza (GERMANO; GERMANO, 2011).

Uma das formas de fazer com que a contagem microbiana nas carcaças não aumente é resfria-las antes de embalar o produto final (BELUCCO et al., 2016; JAMES et al., 2006). O resfriamento, ao reduzir a temperatura, evita a multiplicação dos microrganismos patogênicos (JAMES et al., 2006).

Para reduzir a carga microbiana em carcaças de aves, o resfriamento em *chiller* é essencial, podendo-se chegar a uma redução de 2 ciclos log para a *E. coli* genérica (GEC) quando comparado as concentrações de contaminação microbiana em carcaças de frango após a depenagem e após o sistema de resfriamento (WILLIAMS; EBEL; ALLENDER, 2015).

Em um estudo que relata a importância do sistema de resfriamento através da avaliação quantitativa e qualitativa de *Campylobacter* sp. e *E. coli* em carcaças de frango de dois frigoríficos localizados na Austrália, foram coletadas amostras em várias etapas do abate. As amostras foram coletadas depois das etapas de depenagem, escaldagem, evisceração, resfriamento em *chiller* e embalagem. As amostras que foram analisadas após a escaldagem e refrigeração tiveram reduções médias significativas de 2,9 log₁₀ UFC/carcaça para *Campylobacter* sp. e 2,5 log₁₀ UFC/carcaça para *E. coli* (DUFFY et al., 2014)

Ainda, Zweifel, Althaus e Stephan (2015), avaliaram a contagem microbiológica de alguns microrganismos dentre eles, *Enterobacterias/Escherichia coli* em três abatedouros de frango para diferentes etapas do processo de abate (depois da escaldagem, depois da depenagem, lavagem e do sistema de resfriamento). Na etapa após a depenagem as maiores porcentagens de carcaças com contagens superiores a 2,9 log UFC/g foram encontradas independentemente do abatedouro. Nas etapas posteriores (lavagem e sistema de resfriamento) houve redução que variou em torno de 1 a 9 % e as diferenças encontradas entre os abatedouros podem ser atribuídas as questões de temperatura e tempo de exposição que a carcaça é submetida nestas etapas do processo de abate.

Svobodová et al. (2012) avaliaram 160 carcaças quanto à contaminação microbiana após a depenagem, evisceração, lavagem e refrigeração, para alguns microrganismos, dentre eles *E. coli* e *Listeria* spp. Em todas as etapas houve redução da população de *E. coli*, contudo, a redução foi mais significativa na etapa de resfriamento. O número de carcaças contaminadas por *Listeria* foi reduzido depois de cada etapa, não sendo encontrada *Listeria*

monocytogenes, demonstrando que os controles realizados no processo são fundamentais para a redução destes microrganismos.

Em um estudo realizado por Whyte et al. (2004), houve uma redução da carga bacteriana em carcaças de frangos que foram abatidas à noite quando comparada às que foram abatidas pela manhã. A contagem de *E. coli* aumentou em amostras que foram avaliadas após a evisceração independente de ser pela manhã ou à noite (após a lavagem 3,26 log₁₀ UFC/g para amostras realizadas pela manhã e 2,95 log₁₀ UFC/g para amostras realizadas a noite). Isto provavelmente ocorreu devido às carcaças terem sido expostas ao material fecal na evisceração e à ineficiência da lavagem das carcaças em reduzir os níveis microbianos. Altos níveis de *Listeria spp.* também foram encontrados tanto em frangos que foram abatidos pela manhã (72 % na saída do sistema de resfriamento), quanto para frangos abatidos à noite (100 % na saída do sistema de resfriamento), o que indica contaminação cruzada nas carcaças durante o processamento. Boas práticas de higiene no frigorífico devem ser praticados em todas as etapas do processo, sendo aliadas importantes de um sistema APPCC eficaz para redução de contaminação cruzada (WHYTE et al., 2004).

Estudos indicam que remover a pele de cortes de carcaças pode auxiliar na redução do nível de contaminação que pode ser levado para outros locais da planta. Quando comparados os diferentes cortes de frangos (peito com pele, filé de peito, coxa com pele, filé de coxa, coxa e sobrecoxa com pele, filé de coxa e sobrecoxa) compradas em locais de venda, foi possível observar que não são microbiologicamente diferentes por terem ou não a pele removida quando avaliada a presença de *Campylobacter*, *E. coli* e Coliformes. Todavia estudos adicionais são necessários para melhor avaliar o impacto microbiológico que a remoção da pele, antes do sistema de resfriamento, pode acarretar (BERRANG; LADELY; BUHR, 2000).

Uma medida que pode auxiliar no controle microbiológico das carcaças de aves é a utilização de coadjuvantes na água de chuveiros de lavagem ou do sistema de resfriamento. Fato este estudado por Pavic, Cox e Chenu (2015), que usou cloro no chuveiro de lavagem e no sistema de resfriamento e quantificou *E. coli* e *Campylobacter* e verificou a prevalência de *Salmonella* em

carcaça. Neste estudo, o sistema de resfriamento operou de forma contínua, durante 24 e 48 horas e os resultados microbiológicos mostraram que não houve diferença estatística quanto ao tempo de operação do sistema de resfriamento.

Outra variável que pode influenciar no controle microbiológico das carcaças é a renovação da água do sistema de resfriamento. Cavani et al. (2010) realizaram estudo para comparar a carga microbiana da água do sistema de resfriamento e das carcaças de frango depois de 8, 16 e 24 horas de abate. Os níveis de *E. coli* após o sistema de resfriamento foram $2,3 \times 10^3$ UFC/g, $5,9 \times 10^2$ UFC/g e $2,6 \times 10^3$ UFC/g após 8, 16 e 24 horas, respectivamente. O tempo de utilização da água do sistema de resfriamento não teve diferença significativa na carga microbiana das carcaças.

3.6 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* é habitualmente encontrado na pele, nas membranas, mucosas do trato respiratório superior e no intestino do homem. Entre a espécie existente, o *S. aureus* se destaca por ser o mais patogênico e também, por ser o maior responsável pelas infecções humanas, principalmente no ambiente hospitalar (HUDSON, 2014). Dentre as suas características têm-se que é um coco gram-positivo, que quando visto em microscópio pode apresentar pares, em cadeias curtas ou agrupados em cachos, parecidos com os de uva (ADAMS; MOSS, 2008).

Segundo Adams e Moss (2008), *S. aureus* é um dos mais resistentes microrganismos patogênicos que não formam esporos, se multiplicam numa faixa de temperatura de 7 °C e 48 °C, sendo 37 °C a temperatura ótima para sua multiplicação. É resistente a condições adversas (secagem e congelamento) e pode sobreviver por longos períodos de dessecação, sobrevivendo durante o armazenamento em temperaturas ≤ 10 °C. Este

microrganismo pode produzir enterotoxina em temperaturas que variam de 10 a 48 °C, sendo a faixa ótima 40 a 45 °C (HUDSON, 2014).

A multiplicação de *S. aureus* pode ser impedida em temperaturas de refrigeração próximas a 8 °C, se reduzido o pH e a atividade de água (Aa) (VALERO et al., 2009). No entanto, suporta uma larga faixa de pH (4 a 10) e Aa (0,83 e 0,99 ou superior), variando de acordo com a quantidade de oxigênio disponível e substratos (Tabela 2) (GERMANO; GERMANO, 2011; FORSYTHE, 2013). *S. aureus* se multiplica com facilidade em meios que possuem de 10 a 20 % de cloreto de sódio (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Tabela 2 – Condições para a multiplicação de *Staphylococcus aureus* e produção de toxinas

Parâmetro	Multiplicação	Produção de toxinas
Temperatura (°C)	7-48	10-48
pH	4-10	4,5-9,6
Atividade de água	0,83-0,99	0,87-0,99

Fonte: FORSYTHE, 2013, p. 245.

S. aureus está presente na maioria dos ambientes frequentados pelo homem. A colonização do agente inicia-se poucas horas após o nascimento e se prolonga por toda a vida (GERMANO; GERMANO, 2011; FORSYTHE, 2013). O homem, mesmo em condições ótimas de saúde, pode ser o agente de contaminação de *S. aureus* através dos alimentos que são preparados por ele, pois pode contaminá-los nas diferentes fases de fabricação através das mãos e secreções nasais (GERMANO; GERMANO, 2011; FORSYTHE, 2013).

Esta bactéria pode se propagar a partir de animais domésticos, através da ingestão de alimentos contaminados que não foram cozidos o suficiente para inativação da bactéria. Ou ainda, que tenham sido conservados a temperaturas inadequadas que favoreçam a multiplicação da bactéria e a formação da enterotoxina (GERMANO; GERMANO, 2011).

A intoxicação por *S. aureus* pode ocorrer pela ingestão do alimento que apresenta a toxina pré-formada. O agente causador da intoxicação não é a bactéria, mas as toxinas produzidas durante sua multiplicação. A dose mínima de enterotoxina que pode provocar a manifestação das intoxicações estafilocócica é inferior a 1 mg, nível este alcançado quando os níveis de *S. aureus* ultrapassam a população de 10^5 UFC/g (HUDSON, 2014).

Devido ao fato do *S. aureus* não ser um bom competidor, a deterioração dos alimentos em geral ocorre antes do crescimento de população alta necessárias para o desenvolvimento da enterotoxina (FORSYTHE, 2013). As estafilo-entorotoxemias dificilmente causam a morte, porém existem relatos fatais entre crianças, idosos e pessoas que estão gravemente debilitadas (GERMANO; GERMANO, 2011).

Uma das formas que as indústrias têm de prevenir a contaminação dos alimentos por *S. aureus* é através das boas práticas de fabricação e treinamentos com seus empregados (GERMANO; GERMANO, 2011).

O nível de contaminação durante o processamento industrial pode ser devido a vários fatores, como a qualidade da matéria prima já infectada ou até mesmo dos seres humanos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Segundo Rodrigues-Caturla et al. (2012), a refrigeração do produto a temperaturas inferiores a 10 °C inibem a multiplicação de *S. aureus*, embora os resultados mostraram também a capacidade deste microrganismo sobreviver a 10 °C, quando pré-incubado com Aa de 0,960. Nesse mesmo contexto, Adams (2009), relata que uma medida eficaz e que, se aplicada, controla o crescimento de *S. aureus* é o armazenamento a temperaturas mais baixas, sendo que não ocorre crescimento deste microrganismo abaixo de 6 - 7 °C e a temperatura mínima para a produção de toxina é mais elevada.

Outra medida que auxilia na redução de contaminação são os controles relacionados à regulagem de equipamentos e processos, como por exemplo, boas práticas de fabricação, treinamento e orientações constantes de pessoas. De fato, quanto mais automatizado for um processo, menor é a manipulação desde que este seja controlado, e, conseqüentemente, menor a carga microbiana (PACHOLEWICZ et al., 2015).

Mesmo que medidas preventivas sejam tomadas na cadeia de produção, estas ainda não estão sendo suficientes, pois no Brasil, em 2014, foram registrados 886 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), contra 861 surtos no ano de 2013. Já em 2015, o número de surtos foi de 576. Em 2015, a região Sudeste foi a região que apresentou o maior número de notificações com 40,2 %, seguida da região sul com 34,5 %. Entretanto a maioria dos casos não é identificada (51 %) em função da dificuldade de se identificar o agente causador dos surtos, chegando nos dois últimos anos a uma taxa de letalidade 0,06 %. Dentre os principais agentes etiológicos, causadores de surtos, estão *E. coli* e *S. aureus* (LANZA, 2016).

Prevenir a contaminação das carcaças abatidas com medidas de higiene, prevenção e minimização de contaminação fecal, programação de abate e design higiênico sanitário de equipamentos são fatores que auxiliam na redução de contaminação por microrganismos (ALGINO et al., 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O produto do estudo (filé de peito sem osso, sem pele, sem filezinho) foi obtido de um abatedouro localizado no Oeste do estado de Santa Catarina, que abate em torno de 132.000 aves/dia, sendo habilitada e certificada a exportar seus cortes para diversos mercados internacionais, além do comércio nacional. A empresa opera sob fiscalização do Serviço de Inspeção Federal (SIF). Ainda, os parâmetros do processo de resfriamento da linha de abate, como o teor de cloro (0,3 a 0,5 ppm), temperatura da água do sistema de resfriamento (16 °C para o pré-*chiller* e 4 °C para o *chiller*), renovação da água (1,5 litros por ave para o pré-*chiller* e 1 litro por ave para o *chiller*) e temperatura da carcaça são controlados pela empresa.

Na indústria onde o trabalho foi realizado, existem quatro Pontos Críticos de Controle (PPC) ao longo do fluxo do processo de produção (Figura 3). O PCC 1, controla os perigos químicos referentes aos medicamentos ministrados às aves no campo e o seu período de carência. O PCC 2 controla perigos biológicos, à medida que monitora a existência de contaminação biliar e/ou fecal visível na parte interna e externa das carcaças, antes delas adentrarem no sistema de resfriamento. O PCC 03, foco deste estudo, controla a temperatura dos produtos na entrada do túnel de congelamento e temperatura do túnel de congelamento, sendo este um dos pontos importantes para o controle microbiológico do processo. O último PCC, o PCC 4 controla os perigos físicos relacionados à presença de metal nos produtos.

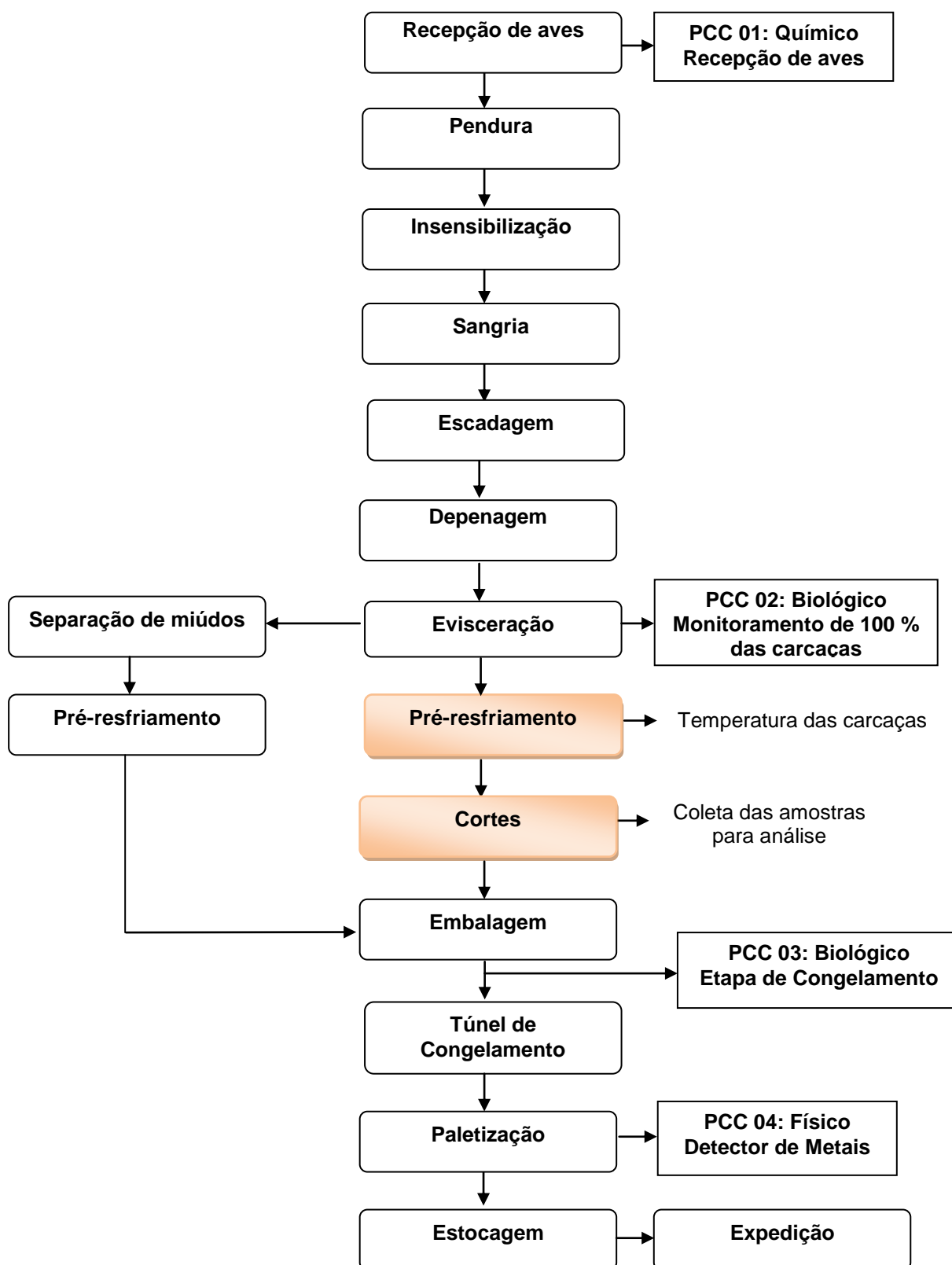


Figura 3 - Fluxograma do processo de abate de frango, localização dos PCC's e local de coleta de amostras.

Fonte: Autoria própria.

4.1 MATERIAL

O experimento foi conduzido no segundo semestre de 2015, em duas etapas, com intervalo de uma semana entre elas. As coletas das amostras aconteceram nos três primeiros dias de cada semana e nas horas iniciais de abate, na tentativa de evitar possíveis contaminações oriundas de lotes abatidos anteriormente (Tabela 3).

Tabela 3 – Dados dos lotes usados para avaliação do sistema de resfriamento a 4 e 7 °C, análises microbiológicas e análises físico-químicas

Lote*	Temperatura sistema de resfriamento (°C)	Peso médio (g)	N° aves	Idade	Linhagem	Sexo
1	7	3239 ±180	6200	44	Cobb	Macho
2	7	2989 ±216	13200	47	Cobb, Ross e Hubard	Macho
3	7	3060 ±151	12400	46	Ross	Macho
4	4	2848 ±120	16000	44	Cobb	Macho
5	4	3009 ±185	12400	45	Cobb	Macho
6	4	3000 ±165	12400	45	Cobb	Macho

* Cada lote corresponde a um ensaio e a um dia de produção.

4.1.2 Amostragem

Para avaliação da temperatura do sistema de resfriamento, foram amostradas 130 carcaças de cada lote (n= 390 carcaças em cada condição de temperatura) (Figura 3). A temperatura das carcaças foi medida imediatamente após a saída do sistema de resfriamento.

Para as análises microbiológicas, o plano de amostragem teve como base o estudo de Habib et al. (2012), em função das semelhanças encontradas com o frigorífico onde o estudo foi realizado (plano APPCC implementado, processar mais de 10.000.000 carcaças ano, além da avaliação após sistema de resfriamento). Assim, quando o sistema de resfriamento operou a 4 °C,

foram realizadas coletas em três pontos na sala de cortes: após o refile, após o produto atingir 7 °C e após atingir 10 °C. No caso do sistema de resfriamento operando a 7 °C, a amostragem aconteceu após o refile e após o produto atingir 10 °C (Figura 3).

A Tabela 4 apresenta o esquema de coleta aleatória das 390 amostras para avaliação do sistema de resfriamento e das 240 amostras (para cada microrganismo) para realização das análises microbiológicas na sala de cortes.

Tabela 4 – Quantidade de amostras coletadas para análise microbiológica e de mensuração de temperatura nas carcaças após o sistema de resfriamento a 4 e 7 °C

Lote*	Temperatura do <i>chiller</i> (°C)	Amostragem para mensuração de temperatura	Amostragem para análise microbiológica			
			4 °C	7 °C	10 °C	Total
1	7	130	-	16	16	
2	7	130	-	16	16	96
3	7	130	-	16	16	
4	4	130	16	16	16	
5	4	130	16	16	16	144
6	4	130	16	16	16	

* Cada lote corresponde a um ensaio e a um dia de produção.

Especificamente, foi estabelecido que o corte (meio peito sem osso, sem pele, sem filezinho) deveria atingir 10 °C em um tempo máximo de quatro horas, devido ao disposto na Circular n° 668/2006 do MAPA, que preconiza que o corte deve atingir 4 °C em, no máximo, 4 horas após a sangria (BRASIL, 2006). A definição de produto mais e menos manipulado é feita a partir do estudo intitulado “4 °C em 4 horas”, onde qualquer produto deve atingir a temperatura de 4 °C em um tempo máximo de 4 horas a partir da etapa da sangria. Este estudo serve como base de monitoramento e verificação de um dos PCC’s adotados pela empresa, seguindo o programa de APPCC instalado.

Após a coleta, as amostras foram armazenadas individualmente em sacos plásticos esterilizados, próprios para coleta, identificadas e lacradas. Posteriormente, foram armazenadas em caixas isotérmicas, resfriadas com gelo, para que fossem enviadas para análise microbiológica, em laboratório localizado na Cidade de Francisco Beltrão-PR, acreditado pela norma ABNT NBR ISO/IEC 17025, para condução das análises microbiológicas. O tempo médio transcorrido entre a coleta da amostra e a entrada no laboratório para realização das análises foi de 12 horas.

A amostragem para análise físico-química de pH e Aa foi realizada logo após o refile do produto, sendo coletadas, aleatoriamente, cinco amostras por lote/dia na sala de cortes (Figura 3). A Tabela 5 apresenta o esquema de amostragem para a realização das análises físico-químicas.

Tabela 5 – Quantidade de amostras coletadas para análise físico-química de pH e Aa após sistema de resfriamento a 4 e 7 °C

Lote*	Temperatura do <i>chiller</i> (°C)	Quantidade de amostras para	
		pH e Aa	Total
1	7	5	15
2	7	5	
3	7	5	
4	4	5	15
5	4	5	
6	4	5	

* Cada lote corresponde a um ensaio e a um dia de produção.

As amostras para as análises físico-químicas foram enviadas embaladas em sacos plásticos esterilizados, lacrados, acondicionadas em caixa isotérmica com gelo e conduzidas até o Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento da empresa, localizado em Chapecó-SC, para que fossem realizadas as análises de pH e Aa. O tempo médio transcorrido entre a coleta da amostra e a entrada no laboratório para realização das análises foi de 12 horas.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Análise microbiológica

O preparo e diluições das amostras foram realizadas de acordo com as metodologias descritas na ISO 6887-1:1999.

4.2.1.1 Quantificação de *Staphylococcus aureus*

As análises de *S. aureus* foram realizadas com base na metodologia AOAC 2003.1 (2011). Foram pesadas 25 g de amostra, e homogeneizadas em 225 mL de água peptonada (APT) a 0,1 %, sendo obtida a diluição de 10^{-1} . Foi utilizada apenas esta diluição, da qual foi retirado 1 mL que foi inoculado assepticamente em placas de Petrifilm (3MTM) STX.

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 ± 1 °C, durante 24 ± 2 horas. Posteriormente, foi realizada a contagem das colônias caracterizadas pela coloração vermelho-violeta. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC/g).

4.2.1.2 Determinação da prevalência de *Listeria monocytogenes*

A pesquisa de *L. monocytogenes* foi feita através da metodologia VIDAS 48 h, segundo AOAC n°. 2004.02 (2008). Foram pesados 25 g da amostra e colocados em sacos esterilizados. Após serem adicionados 225 mL de caldo Half Fraser e 2,25 mL de suplemento Fraser, tudo foi homogeneizado em *Stomacher* (Logen[®] Lagos, Nigéria), durante 60 segundos.

Após a homogeneização, as amostras foram incubadas a 30 ± 1 °C, durante 24 a 26 horas. Posteriormente à incubação, as amostras foram homogeneizadas manualmente, sendo retirada uma alíquota de 0,1 mL e misturada com 0,1 mL de suplemento Fraser e 10 mL de Super Fraser. Em seguida, os tubos com as amostras em análise foram incubados em estufa bacteriológica a 37 ± 1 °C, durante 24 horas.

Após esta incubação, foi transferida uma alíquota de 0,5 mL de caldo Fraser para os barretes do equipamento VIDAS. Esta alíquota foi aquecida durante 5 ± 1 minuto a 100 °C. Após aquecimento, os barretes foram colocados no equipamento e a amostra foi cadastrada no ensaio LMO (*Listeria monocytogenes*) e a análise da amostra foi iniciada. Caso o resultado indicasse a presença de *Listeria*, a amostra deveria ser confirmada na metodologia ISO 11290 / AMD 1:2004. Os resultados foram expressos em “ausência ou presença em 25 gramas”.

4.2.1.3 Quantificação de *Escherichia coli*

A contagem de *E. coli* foi realizada segundo o método da AOAC 991.14 (2014). Foram pesados 25 g de amostra, após foram homogeneizados em 225 mL de água peptonada (APT) a 0,1 %. Desta diluição foi retirada uma alíquota de 1 mL, que foi transferida para placas de Petrifilm EC (3M™).

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 ± 1 °C, durante 48 ± 2 horas. Posteriormente, foi realizada a contagem das colônias caracterizadas pela coloração azul, com presença de gás. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC/g).

4.2.2 Análises Físico-químicas

O pH foi determinado através de leitura direta na amostra, usando um potenciômetro digital (AKSO, modelo AK 96, São Leopoldo, Brasil) previamente calibrado com soluções tampão pH 7,0 e 4,0. A avaliação ocorreu diretamente no músculo (DENADAI et al., 2002; TAKAHASHI et al., 2012; VIEIRA, 2007).

A atividade de água (Aa) foi avaliada em aparelho AquaLab (São Paulo, Brasil) no qual as amostras previamente moídas em *cutter* (Becker, Brusque, Brasil) foram acondicionadas em cubetas adequadas para a leitura no equipamento.

4.3 TRATAMENTO DOS DADOS

4.3.1 Análise da eficiência do sistema de resfriamento

Dados referentes à variável temperatura de carcaças na saída do sistema de resfriamento foram avaliados através de controle estatístico para a variável temperatura, sendo avaliado o índice de capacidade do processo (C_{pk}) em atender as especificações de temperatura. O C_{pk} foi calculado utilizando a equação:

$$C_{pk} = \text{mín} \left| \frac{(LSE - \mu)}{(3 - \sigma)} \right|$$

O valor de LSE indica o limite superior de especificação da variável temperatura, μ é a média dos valores de temperatura e σ é o desvio padrão dos dados. Valores de $C_{pk} \geq 1,33$ indicam que as condições de operação do processo são capazes de atender as especificações de temperatura, valores de C_{pk} entre 1 e 1,33 indicam que elas atendem de forma razoável, valores de

$C_{pk} < 1$ advertem que elas são incapazes de atender às especificações (ROSA, 2009).

4.3.2 Análise dos dados microbiológicos e químicos

A partir dos valores de contagem microbiana em cortes de frango do tipo peito, foram elaboradas tabelas com o total de amostras que apresentaram contagem, sendo calculados os percentuais de incidência.

Para pH e Aa foi aplicado a Análise de Variância dos dados (ANOVA), e a comparação das médias foi realizada através do teste de Newman-Keuls com significância de 5 %, utilizando o software Statistic 9.1 (STATSOFT INC., USA).

REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf>. Acesso em: 12 out. 2016.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2016>>. Acesso em: 30 out. 2016.

ADAMS, M. *Staphylococcus aureus* and other pathogenic Gram-positive cocci. In BLACKBURN, C. W.; MCCLURE, P. J. **Foodborne Pathogens Hazard, Risk Analysis and Control**, 2^o ed. Nova York: CRC Press, 2009, p.802-819.

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Food Microbiology**, 3. ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2008, p.216-256.

ALGINO, R.J et al. Factors associated with *Salmonella* prevalence on pork carcasses in very small abattoirs in Wisconsin. **Journal of Food Protection**, v. 72, n.4, p.714-721, 2009.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. OAC Official Method 991.14 – Coliforms and *E. coli* Counts in Foods, Dry Rehydratable Film (Petrifilm Count Plate). AOAC, 2014.

_____. AOAC Official Method 2004.02 - *L. monocytogenes* in Foods. VIDAS *L. monocytogenes* II(LMO2). AOAC, 2008.

_____. AOAC Oficial Method 2003.11 3MTM Petrifilm™ Staph Express Count Plate Method for the Enumeration of *S.aureus* in Selected Types of Meat, Seafood, and Poultry. AOAC, 2011.

AVEWORLD. Disponível em: <<http://www.aveworld.com.br/noticia/frangos-producao-e-exportacao-previsoes-para-2015-e-2016>>. Acesso em: 12 out. 2016.

AVISITE. Portal da avicultura. Disponível em:
<<http://www.avisite.com.br/noticias/?codnoticia=15446>> Acesso em: 28 nov. 2015.

_____. Portal da avicultura. Disponível em:
<<http://www.avisite.com.br/economia/index.php?acao=exportacao>>. Acesso em: 02 mai. 2016.

BARANCELLI, G. V et al. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.155-168, 2011.

BARBALHO, T.C.F et al. Prevalence of *Listeria spp.* at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. **Food Control**, v.16, n.3, p.211-216, 2005.

BERRANG, M. E.C.; LYON, E.; SMITH, D. P. Incidence of *L. monocytogenes* on pre-scald and post-chill chicken. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.9, n.4, p.546-550, 2000.

BELLUCO, S et al. *E. coli* and Enterobacteriaceae counts on poultry carcasses along the slaughterline: A systematic review and meta-analysis. **Food Control**, v.60, p.269-280, 2016.

BILGILI, S.F. et al. Visible ingesta on prechill carcasses does not affect the microbiological quality of broiler carcasses after immersion chilling. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.11, n.3, p.233-238, 2002.

BOURROUL, G. O preço da refrigeração. In: **Revista Nacional da Carne**, n.357, p. 36-44, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em:
<<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves.>> Acesso em: 15 out. 2016a.

_____. _____. Disponível em:
<<http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>>. Acesso em: 31 out. 2016b.

_____._____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 668 de 19/09/2006. Diretrizes para preparação de Plano de APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. Brasília, 2006.

_____._____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 818/2010/CGPE/DIPOA de 26 de novembro de 2010. Normas Russas Aves. Normas referentes a produção e circulação da carne de aves. Aditamento Circular 681/2010/CGPE/DIPOA. Brasília, 2010.

_____._____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria número 46, de 10 de fevereiro de 1998. Manual genérico de procedimentos para APPCC em indústrias de produtos de origem animal. Brasília, 1998a.

_____._____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. Brasília, 1998b.

BUNCIC, S.; SOFOS, J. Interventions to control *Salmonella* contamination during poultry, cattle and pig slaughter. **Food Research International**, v.45, n.2, p.641-655, 2012.

CARVALHO, A.C.F.B et al. Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivo Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.303-307, 2005.

CASELANI, K et al. Ocorrência de *Listeria spp.* e de *L. monocytogenes*, em um matadouro-frigorífico de bovinos do Estado de São Paulo. **Bioscience Journal**, v.29, n.4, p.956-961, 2013.

CAVANI, R. et al. Comparison of microbial load in immersion chilling water and poultry carcasses after 8, 16 and 24 working hours. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p.1603-1609, 2010.

CHEN, M et al. Prevalence and characterization of *L. monocytogenes* isolated from retail-level ready-to-eat foods in South China. **Food Control**, v.38, p.1-7, 2014.

COX, J.M.; PAVIC, A. Advances in enteropathogen control in poultry production. **Journal of Applied Microbiology**, v.108, n.3, p.745-755, 2010.

CRUZ, C.D.; MARTINEZ, M.B.; DESTRO, M.T. *L. monocytogenes*: um agente infeccioso ainda pouco conhecido no Brasil. **Alimentos e Nutrientes**, v.19, n.2, p.195-206, 2008.

DESTRO, M. T. ***L. monocytogenes* na cadeia produtiva de alimentos: da produção primária ao consumidor final**. 2006. 74f. Tese (Livre Docência) - Departamento de Alimentos e Nutrição Animal, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

DENADAI, J.C et al. Efeito da duração do período de jejum pré abate sobre rendimentos de carcaças e a qualidade da carne do peito de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.2, p.101-109, 2002.

DUFFY, L.L et al. Quantitative effects of in-line operations on *Campylobacter* and *E. coli* through two Australian broiler processing plants. **International Journal of Food Microbiology**, v.188, p.128-134, 2014.

EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. *Campylobacter* and *Listeria* infections still rising in the EU – say EFSA and ECDC. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/151217>>. Acesso em: 25 set. 2016.

ESCUADERO-GILETE, M.L et al. Application of multivariate concentric method system for the location of *L. monocytogenes* in a poultry slaughterhouse. **Food Control**, v.18, n.1, p.69-75, 2007.

ESCUADERO-GILETE, M.L.G.; GONZÁLEZ-MIRET, M.L.E.; HEREDIA, F.J. Application of multivariate statistical analysis to quality control systems. Relevance of the stages in poultry meat production. **Food Control**, v.40, p.243-249, 2014.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. Poultry production and the environment – a review. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/againfo/home/events/bangkok2007/docs/part2/2_2.pdf>. Acesso em: 15 out. 2016

FERREIRA, V et al. *L. monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. **Journal of Food Protection**, v.1, n.77, p.150-177, 2014.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FOX, E.M.; WALL, P.G.; FANNING, S. Control of *Listeria* species food safety at a poultry food production facility. **Food Microbiology**, v.51, p.81-86, 2015.
FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. 1º.ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. 4º ed., Espanha, Acribia, Zaragoza, 1993.

GERMANO, P.M.L.G; GERMANO, M.I.S.G. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 4º ed. São Paulo: Manole, 2011.

GIBBONS, I.S et al. Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with *Listeria spp.* and other pathogens in a meat processing plant in Trinidad. **Food Microbiology**, v.23, n.4, p.359-366, 2006.

GILL, C.O.; JONES, T.H. Setting control limits for *E. coli* counts in samples collected routinely from pig or beef carcasses. **Journal of Food Protection**, v.69, n.12, p.2837-2842, 2006.

GONZÁLEZ-GILETE, M.L.E.; ESCUDERO-MIRET, M.L.G.; HEREDIA, F.J. The establishment of critical control points at the washing and air chilling stages in poultry meat production using multivariate statistics. **Food Control**, v.17, n.12, p.935-941, 2006.

GONÇALVES, A.C et al Quantitative investigation of the effects of chemical treatments in reducing *L. monocytogenes* populations on chicken breast meat. **Food Control**, v.16, n.7, p.617-622, 2005.

GONZALES-MIRET, M.L.G.; ESCUDERO-GILETE, M.L.E.; HEREDIA, F.J. The establishment of critical control points at the washing and air chilling stages in poultry meat production using multivariate statistics. **Food Control**, v.17, n.12, p.935-941, 2006.

GUERRA, M.M.; BERNARDO, F.A. Multiplicação e sobrevivência de *L. monocytogenes* sob condições ecológicas desfavoráveis – parte I:

Temperatura, acidez e Aa. **Revista Higiene Alimentar**, v.20, n.139, p.65-73, 2006.

HABIB, I.; DE ZUTTER, L.; HUFFEL, X.V et al. Potential of *Escherichia coli* as a surrogate indicator for postchill broiler carcasses with high *Campylobacter* counts. **Food Control**, v.25, n.1, p. 96-100, 2012.

HOFFMANN, S.; BATZ, M.B.; MORRIS, J.G. Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the United States due to 14 foodborne pathogens. **Journal Food Protection**, v.7, n.75, p.1292-1302, 2012.

HUDSON, J. *Staphylococcus aureus*. In: DIKEMAM, M.; DEVINI, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2^o ed. Nova Zelândia: Elsevier, v.5, 2014. p.820-825.

HUFFMAN, R.D. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. **Meat Science** v.62, n.3, p.285–294, 2002.

ISO. The international Organization for Standardization. ISO 6887-1:1999. **Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions**, 1 ed., 1999.

ISO. The international Organization for Standardization. ISO 22.000:2005. **Food safety management systems: Requirements for any organization in the food chain**. 2017. Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:22000:ed-1:v1:en>>. Acesso em: 06 jan. 2017.

JAMES, C et al. The primary chilling of poultry carcasses - a review. **International Journal of Refrigeration** v.29, n.6, p.847-862, 2006.

JIANG, H.X. et al. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *E. coli* isolates in pigs and poultry in China. **The Veterinary Journal**, v.187, n.1, p.99-103, 2011.

JOUBE, J.L. Principles of food safety legislation. **Food Control**, v.9, n. 2-3, p.75-81, 1998.

KALLIPOLITIS, B.H.; INGMER, H. *L. monocytogenes* response regulators important for stress tolerance and pathogenesis. **FEMS Microbiology Letters**, v.204, n.1, p.111-115, 2001.

LANZA, J. Surtos Alimentares no Brasil – Dados Atualizados em Janeiro de 2016. Disponível em: <<http://foodsafetybrazil.org/surtos-alimentares-no-brasil-dados-atualizados-em-janeiro-de-2016>>. Acesso em: 02 nov.2016.

LOMONACO, S.; NUCERA, D.; FILIPELLO, V. The evolution and epidemiology of *L.monocytogenes* in Europe and the United States. **Infection, Genetics and Evolution**, v.35, p.172-183, 2015.

LOU, Y.; YOUSEF, A.E. Characteristics of *L. monocytogenes* important to food processors. In: RYSER, E. T.; MARTH, E. H. **Listeria, Listeriosis and Food Safety**. 3^o ed. Nova York: CRC Press, 2007, p.158-218.

LOURA C.A.C.; ALMEIDA R.C.C.; ALMEIDA, P.F. The incidence and level of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* contamination in processed poultry at a poultry processing plant. **Journal of Food Safety**, v.25, v.1, p.19-25, 2005.

MARTINS, E.A.; GERMANO, P.M.L. Microbiological indicators for the assessment of performance in the hazard analysis and critical control points (HACCP) system in meat lasagna production. **Food Control**, v.19, n.8, p.764-771, 2008.

MATARAGAS, M et al. Integrating statistical process control to monitor and improve carcasses quality in a poultry slaughterhouse implementing a HACCP system. **Food Control**, v.28, n.2, p.205-211, 2012.

MATIAS, B.G et al. *Salmonella* spp. and hygiene indicator microorganisms in chicken carcasses obtained at different processing stages in two slaughterhouses. **Journal Foodborne Pathogens and Disease**, v.7, n.3, p.313-318, 2010.

MAY K.N.; RODGERS, P.D.; WHITE, H.D. Thermocouple placement in chicken carcasses. **Poultry Science**, v.40, n.6, p.1764-1766, 1961.

McLAUHLIN, J. The pathogenicity of *L. monocytogenes*: a public health perspective. **Reviews in Medical Microbiology**, v.8, n.1, p.1-14, 1997.

MEAD, P.S et al. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.5, p.607-625, 1999.

MELO, C.O.; SILVA, G.H.; ESPERANCINI, M.S.T. Análise econômica da produção de frango de corte sob condições de risco no estado do Paraná. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.6, p.1919-1926, 2008.

MILIOS, K.T.; DROSINOS, E.H.; ZOIPOULO, P.E. Food safety management system validation and verification in meat industry: Carcass sampling methods for microbiological hygiene criteria – a review. **Food Control**, v.43, p.74-81, 2014.

NORTHCUTT, J.K. et al. Broiler carcass bacterial counts after immersion chilling using either a low or high volume of water. **Poultry Science**, v.85, n.10, p.1802-1806, 2006.

OSAILI, T.M.; ALABOUDI, A.R.; NESIAR, E.A. Prevalence of *Listeria spp.* and antibiotic susceptibility of *L. monocytogenes* isolated from raw chicken and ready to eat chicken products in Jordan. **Food Control**, v.22, n.3-4, p.586-590, 2011.

PACHOLEWICZ, E et al. A comparison of fluctuations of *Campylobacter* and *E. coli* concentrations on broiler chicken carcasses during processing in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, v.205, p.119-127, 2015.

PANSIELLO, P.J.; QUANTICK, P.C.; Technical barriers to Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP). **Food Control**, v.12, n.3, p.165-173, 2001.

PAVIC, A.; COX, J.M.; JEREMY, W.C. Effect of extending processing plant operating time on the microbiological quality and safety of broiler carcasses. **Food Control**, v. 56, p.103-109, 2015.

PITOUT, J.D.D. Extraintestinal pathogenic *E. coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. **Expert Review Anti-Infective Therapy**, v.10, n.10, p.1165-1176, 2012.

RIBEIRO, C.S.G.; CORÇÃO, M. O consumo de carne no Brasil: entre valores socioculturais e nutricionais. **Alimentação, Nutrição e Saúde**, v.8, n. 3, p.423-438, 2013.

RODRIGUES, A.C.A et al. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1948-1953, 2008.

RODRIGUES-CATURLA, M.Y et al. Effect of pre-incubation conditions on growth and survival of *S.aureus* in sliced cooked chicken breast. **Meat Science**, v.92, n.4, p.409-416, 2012.

RODRIGUES, L.B et al. *Salmonella* and *Listeria* from Stainless Steel, Polyurethane and Polyethylene Surfaces in the Cutting Room of a Poultry Slaughterhouse. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.41, p.1-7, 2013.

ROPKINS, K.; BECK, A.J. Evaluation of worldwide approaches to the use of HACCP to control food safety. **Trends in Food Science and Technology**, v.11, n.1, p.10-21, 2000.

ROSA, L.C. **Introdução ao Controle Estatístico de Processos**. Santa Maria: Editora UFSM, 2009.

SALUDES, M.; TRONCOSO, M.; FIGUEROA, G. Presence of *L. monocytogenes* in chilean food matrices. **Food Control**, v.50, p.331-335, 2015.

SAMS, A.R; MCKEE, S.R. First processing e slaughter through chilling. In Poultry meat processing. In: SAMS, A.R. **Poultry Meat Processing**. Washington: CRC Press, 2001, p.19-34.

SANTOS, L. A et al. Número mais provável miniaturizado e microbiologia convencional para isolamento de *Salmonella spp.* em abatedouros de frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, p.223-229, 2015.

SAUNDERS, B.D.; WIEDMANN, M. Ecology of *Listeria* species and *L. monocytogenes* in the natural environment. In: RYSER, E. T.; MARTH, E. H. **Listeria, Listeriosis and Food Safety**, 3° ed. Nova York: CRC Press, 2007, p.21-53.

SILVA, I.J.O.; VIEIRA, F.M.C. Ambiência animal e as perdas produtivas no manejo pré-abate: o caso da avicultura de corte brasileira. **Archivos de Zootecnia**, v.59, p.113-131, 2010.

SLUTSKER, L.; SCHUCHAT, A. Listeriosis in humans. In: RYSER, E. T.; MARTIN, E. H. **Listeria, Listeriosis and Food Safety**, 3° ed. Nova York: CRC Press, 2007, p.85-110.

SOFOS, J.N. Challenges to meat safety in the 21st century. **Meat Science**, v.78, n.1-2, p.3-13, 2008.

SPERBER, W. H. HACCP and transparency. **Food Control**, v.16 n.6, p.505-509, 2005.

SVOBODOVÁ, I et al. Microbiological quality of broiler carcasses during slaughter processing. **Acta Veterinaria Brno**, v.81, n.1, p.37-42, 2012.

TRAFIAŁEK, J. et al. HACCP-based procedures in Germany and Poland. **Food Control**, v.55, p.66-74, 2015.

TAKAHASHI, S. E et al. Qualidade da carne de frangos de corte tipo colonial e industrial. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.9, n.18, 2012.

TODD, E.C.D.; NOTERMANS, S. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v.22, n.9, p.1484-1490, 2011.

TOMPKIN, R.B. Interactions between government and industry food safety activities. **Food Control**, v.12, n.4. p.203-207, 2001.

TONDO, E.C; BARTZ, S. **Microbiologia e sistema de gestão da segurança de alimentos**. 2° ed. Porto Alegre, Sulina, 2014.

TRAFIAŁEK, J. et al. HACCP-based procedures in Germany and Poland. **Food Control**, v.55, p.66-74, 2015.

TSCHUDIN-SUTTER et al. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: a threat from the kitchen. **Infect Control Hospital Epidemiology**, v.35, n.5, p.581-584, 2014.

TSOLA, E.; DROSINOS, E.H. ; ZOIPOULOS, P. Impact of poultry slaughter house modernisation and updating of food safety management systems on the microbiological quality and safety of products. **Food Control**, v.19, n.4, p.423-432, 2008.

UBABEF. União Brasileira de Avicultura. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/files/RelatorioAnual_UBABEF_2015_DIGITAL.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2016.

VALERO, A. et al. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. **International Journal of Food Microbiology**, v.133, n.1-2, p.186-194, 2009.

VIEIRA, E. T. T. **Influencia do processo de congelamento na qualidade do peito de frango**. 2007. 119f. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2007.

WANG, Z.; YUAN, H.; GALE, F. Costs of Adopting a Hazard Analysis Critical Control Point System: Case Study of a Chinese Poultry Processing Firm, **Review of Agricultural Economic**,v.31, n.3, p.574–58, 2009.

WHYTE, P et al. The effect of sampling time on the levels of micro-organisms recovered from broiler carcasses in a commercial slaughter plant. **Food Microbiology**, v.21, n.1, p.59-65, 2004.

WILLIAMS, M.S.; EBEL, E.D.; ALLENDER, H.D. Industry-level changes in microbial contamination on market hog and broiler chicken carcasses between two locations in the slaughter process. **Food Control**, v.51, p.361-370, 2015.

ZWEIFEL, C.; ALTHAUS, D.; STEPHAN, R.; Effects of slaughter operations on the microbiological contamination of broiler carcasses in three abattoirs. **Food Control**, v.51, p.37-42, 2015.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta dissertação estão apresentados no formato de artigo científico, conforme descrito abaixo:

ARTIGO – PREVALÊNCIA DE MICRORGANISMOS PATÓGENOS E INDICADORES DE QUALIDADE E HIGIENE EM FILÉ DE PEITO DE FRANGO APÓS O SISTEMA DE RESFRIAMENTO. Artigo será submetido à revista técnica Higiene Alimentar

ARTIGO – PREVALÊNCIA DE MICRORGANISMOS PATÓGENOS E INDICADORES DE QUALIDADE E HIGIENE EM FILÉ DE PEITO DE FRANGO APÓS O SISTEMA DE RESFRIAMENTO

PREVALÊNCIA DE MICRORGANISMOS PATÓGENOS E INDICADORES DE QUALIDADE E HIGIENE EM FILÉ DE PEITO DE FRANGO APÓS O SISTEMA DE RESFRIAMENTO

Patricia Lodea^{*}, Andréa Cátia Leal Badaró, Alessandra Machado-Lunkes

Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Londrina, Brasil. Avenida dos Pioneiros, 3131, 86036-370, Londrina, Paraná, Brasil. Telefone: +55 (43) 3315-6100, Fax +55 (43) 3315-6121. *E-mail: paty_lodea@yahoo.com.br.
para *E. coli* e *S. aureus*,.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo quantificar *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e determinar a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em peito de frango após o sistema de resfriamento, que operou em temperaturas de 4 e 7 °C. O pH e atividade de água (Aa) também foram avaliados. Para carcaças que saíram a 4 °C, 95,83 e 97,92 % das amostras apresentaram contagem abaixo de 10 UFC g⁻¹ para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. Quando resfriadas à 7 °C, 92,71 e 86,46 % apresentaram este nível de contagem para *E. coli* e *S. aureus*. *L. monocytogenes* não esteve presente em nenhuma das amostras avaliadas. Os resultados sugeriram que as temperaturas do sistema de resfriamento não propiciaram um incremento na contagem microbiana. O pH e Aa diferiram estatisticamente para o sistema de resfriamento a 4 ou a 7 °C, contudo demonstrou não influenciar os resultados microbiológicos (p <0,05).

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. *Listeria monocytogenes*.

INTRODUÇÃO

A contaminação de produtos cárneos é um dos fatores que ocasionam significativas perdas de produtividade e rentabilidade na linha de abate de aves (RODRIGUES et al., 2013). A implantação de programas como o de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) auxiliam no controle dos processos, de modo que a multiplicação de microrganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* seja evitada ao longo das etapas que compõem o processo de abate (FOX et al., 2015; PACHOLEWICZ et al., 2015). A essência do APPCC é que os perigos significativos são identificados e podem ser controlados em um Ponto Crítico de Controle (PCC) (SPERBER, 2005). Este PCC pode controlar a temperatura de entrada dos produtos no túnel de congelamento bem como o tempo para redução da temperatura a 4 ° C (BRASIL, 2006).

Na linha de abate de frangos, dentre as várias etapas que compõem o processo, um dos pontos possíveis de controle é a redução de temperatura das carcaças na etapa de resfriamento, apresentando significativo impacto no controle da carga microbiana em geral (RODRIGUES et al., 2008). A legislação brasileira estabelece que carcaças na saída do sistema de resfriamento devem estar com temperatura inferior a 7 ° C (BRASIL, 1998), no entanto alguns países importadores, como Rússia e China, exigem que a carne seja resfriada a temperaturas inferiores a 4 ° C (BRASIL, 2011). Porém, o uso de temperaturas menores na saída do sistema de resfriamento eleva os custos devido à maior necessidade de gelo adicionado ao sistema de resfriamento.

Embora sejam numerosos os desafios microbiológicos enfrentados pelos frigoríficos para garantir a qualidade final dos produtos, são poucos os trabalhos que avaliam a variação na incidência de *S. aureus*, *E. coli* e *L. monocytogenes* em amostras de filé de peito submetidas à diferentes temperaturas de resfriamento. Assim, este trabalho buscou investigar, em um abatedouro do Oeste Catarinense, a prevalência de *E. coli*, *S. aureus* e *L. monocytogenes* em amostras de filé de peito de frango, decorrentes do sistema

de resfriamento operando para obtenção de carcaças com temperatura de 4 e 7 °C, respectivamente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em um abatedouro de aves que abate, em média, 132.000 animais/dia, sob inspeção federal (SIF), habilitado a exportar cortes para diferentes mercados.

Foram avaliados seis lotes de frangos machos, linhagens Cobb, Ross e Hubard, com peso médio variando entre 2.848 e 3.239 gramas e idade entre 44 e 47 dias. Para avaliação da temperatura do sistema de resfriamento, um total de 130 carcaças de cada lote foram avaliadas quanto à temperatura após o último estágio do sistema de resfriamento - *chiller* final a 4 (n=390) e 7 °C (n=390). Foram coletadas 240 amostras de meio peito sem osso, sem pele e sem filezinho para as análises microbiológicas (HABIB et al., 2012). Quando o sistema de resfriamento operou a 4 °C, foram realizadas coletas em três pontos da sala de cortes: após o refile, após o produto atingir 7 °C e após atingir 10 °C (n=144). Quando operou a 7 °C, a amostragem aconteceu após o refile e após o produto atingir 10 °C (n=96). Para os dados referentes à contagem microbiana foram elaboradas tabelas com o total de amostras que apresentaram contagem, sendo calculados os percentuais de frequência.

Para as análises microbiológicas, o preparo da amostra foi realizado de acordo com as metodologias descritas na ISO 6887-1:1999 e executadas segundo as metodologias da AOAC 2003.11 (2011), AOAC 2004.02 (2008) e AOAC 991.14 (2014) para *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *E. coli*, respectivamente. Para pH e atividade de água (Aa), foram coletadas 5 amostras por lote/dia em triplicata (n=30). O pH foi determinado pela leitura direta na amostra e Aa em aparelho AquaLab[®]. Para pH e Aa foi aplicado a Análise de Variância dos dados (ANOVA), e a comparação das médias foi realizada através do teste de Newman-Keuls com significância de 5 %,

utilizando o software Statistic 9.1 (STATSOFT INC., USA). Dados referentes à temperatura de carcaças na saída do resfriamento foram avaliados através de controle estatístico para a variável temperatura (C_{pk}). Valores de $C_{pk} \geq 1,33$ indicam que as condições de operação do processo são capazes de atender às especificações de temperatura, valores de C_{pk} entre 1 e 1,33 indicam que elas atendem de forma razoável e $C_{pk} < 1$ indicam que elas são incapazes de atender às especificações (ROSA, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior parte das amostras apresentaram contagens inferiores a 10 UFC.g⁻¹, independentemente da temperatura das carcaças após o resfriamento (Tabela 6 e 7). O maior valor de contagem para *E. coli* (40 UFC.g⁻¹) ocorreu em apenas uma das amostras, após o produto atingir 10 °C depois de refilado, quando a carcaça saiu do sistema a 4 °C.

Tabela 6 – Temperatura de coleta e frequência dos intervalos de contagem de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* para sistema de resfriamento operando a 7 °C (n=96).

Temperatura de coleta	Microrganismos	Contagem UFC.g ⁻¹ *				
		<10	10 – 20	21 - 30	31 – 40	61 - 70
		Quantidade de amostra (frequência %)				
7 °C	<i>E. coli</i>	46 (95,84)	1 (2,08)	1 (2,08)	0 (0)	0 (0)
	<i>S. aureus</i>	44 (91,67)	3 (6,25)	0 (0)	0 (0)	1 (2,08)
10 °C	<i>E. coli</i>	43 (89,58)	5 (10,41)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	<i>S. aureus</i>	39 (81,25)	8 (16,67)	0 (0)	1 (2,08)	0 (0)

* Unidade Formadora de Colônia por grama

O maior valor de contagem para *S. aureus* (70 UFC.g⁻¹) também ocorreu em apenas uma das amostras, após o refile, quando a carcaça saiu do *chiller* 7 °C. Em ambas condições de operação do sistema de resfriamento, a

frequência foi maior quando as amostras foram coletadas a 10 °C, após o refilê, considerando faixa de contagem entre 10 e 20 UFC.g⁻¹.

Os resultados encontrados estão de acordo com descrito por Maroso (2008), que demonstrou que o aumento da temperatura, ao longo das etapas do processo de abate, exerce influência proporcional à incidência de contagem de microrganismos, ou seja, temperaturas mais altas facilitaram a multiplicação de *E. coli*. Baixos níveis de *E. coli* podem ser resultantes de outras etapas do abate que têm a capacidade de reduzi-las (BELLUCO et al., 2016).

Tabela 7 – Temperatura de coleta e frequência dos intervalos de contagem de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* para sistema de resfriamento operando a 4 °C (n=144)

Temperatura de coleta	Microrganismos	Contagem (UFC.g ^{-1*})			
		<10	10 – 20	21 – 30	31 – 40
		Quantidade de amostra (frequência %)			
4 °C	<i>E. coli</i>	47 (97,92)	0 (0)	0 (0)	1 (2,08)
	<i>S. aureus</i>	47 (97,92)	0 (0)	1 (2,08)	0 (0)
7 °C	<i>E. coli</i>	47 (97,92)	1 (2,08)	0 (0)	0 (0)
	<i>S. aureus</i>	48 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
10 °C	<i>E. coli</i>	44 (91,67)	4 (8,32)	0 (0)	0 (0)
	<i>S. aureus</i>	46 (95,83)	2 (4,17)	0 (0)	0 (0)

* Unidade Formadora de Colônia por grama

A tolerância zero para presença de contaminação visível em carcaças, antes do sistema de resfriamento, contribui significativamente para a redução microbiana durante o processo (USDA, 2004). De fato, dados coletados na empresa, no mês de condução deste trabalho antes e após o sistema de resfriamento, mostraram que a carga inicial das carcaças, antes do sistema de resfriamento era baixa. Os dados para *E. coli* foram obtidos a partir da análise de 20 amostras, durante 4 semanas (5 carcaças amostradas em cada semana). A contagem média foi de 23 UFC.g⁻¹ antes do sistema de resfriamento e menor que 10 UFC.g⁻¹ após o resfriamento. Este baixo nível de contagem de *E. coli* corrobora com os dados encontrados no presente trabalho.

Os dados acima relatados podem ser relacionados aos observados por Stefani et al. (2014), que avaliaram a eficiência do método de lavagem com o método de corte de carcaças de frangos para amostras com contaminação

fecal aparente em ambos os casos, para a presença de *E. coli*, após a evisceração. Stefani et al. concluíram que o método de lavagem foi mais eficiente do que o método de corte para remoção da contaminação. Fatores que contribuíram para isto podem estar relacionados aos chuveiros de lavagem (2 chuveiros) que são utilizados nas etapas do processo de abate antes do sistema de resfriamento. Estes chuveiros utilizam pressão em torno de 8 kgf/cm², com uma vazão mínima de 1,5 litros por ave. Assim, este pode ser um dos fatores pelos quais as carcaças, analisadas no presente estudo, possuem baixas contagens de *E. coli*, visto que o abatedouro também realiza este procedimento.

Belluco et al. (2016), descrevem que o resfriamento das carcaças, feito por imersão em água, também pode ter contribuído para as baixas cargas microbianas relacionadas à *E. coli*. Huezo et al. (2007) evidenciaram que após a passagem por resfriadores, as carcaças de frango apresentaram redução de 90 % nas populações de *E. coli*.

Semelhantemente aos resultados para *E. coli*, uma quantidade significativa de amostras apresentou contagens abaixo de 10 UFC.g⁻¹ também para *S. aureus*. A contagem máxima encontrada foi de 70 UFC.g⁻¹ quando o peito estava com temperatura próxima aos 7 °C com sistema de resfriamento operando a 7 °C. Neste trabalho, os maiores valores de contagem para *S. aureus* foram quantificados quando as temperaturas foram superiores a 4 °C, fato que pode estar relacionado à temperatura adequada para o desenvolvimento deste microrganismo (7 e 48 °C) (HUDSON, 2014). Os resultados para *S. aureus* obtidos no presente estudo estão de acordo com os valores citados por Valero et al. (2009), que avaliaram a multiplicação desta espécie em diferentes temperaturas.

Mesmo que os maiores valores tenham sido de 40 e 70 UFC.g⁻¹ para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente, os mesmos encontram-se expressivamente abaixo dos limites especificados pelo PCC da empresa, que são 10³ e 10² UFC.g⁻¹ para os respectivos microrganismos. As contagens encontradas neste trabalho foram inferiores aos limites estabelecidos pelo PCC da empresa,

podendo este fato também ser atribuído ao controle de tempo e temperatura de entrada do filé de peito de frango no túnel de congelamento (BRASIL, 2006).

Neste trabalho, a ausência de *L. monocytogenes* em todas as amostras avaliadas pode estar relacionada com a inexistência de ralos na planta frigorífica. Monteiro et al. (2014) relatam que a existência de ralos contribui para a ocorrência de *L. monocytogenes*. A ausência de *L. monocytogenes* nas amostras de peito também pode ser justificada pela etapa de lavagem das carcaças, anterior à etapa de resfriamento. De acordo com Zweifel e Stephan (2012), existem evidências de que o uso de água em abundância e a pressão adequada dos bicos são eficazes na remoção de contaminantes visíveis como penas e fezes, de modo que haja também uma redução da probabilidade de contaminação microbiana. Outro fator que pode ter influenciado na ausência de *Listeria* nas amostras avaliadas é o fato da empresa, onde foram realizadas as coletas, adotar medidas de APPCC exclusivas para o controle deste microrganismo.

Os valores médios para pH foram de 5,87 (resfriamento a 7 °C) e 6,17 (resfriamento a 4 °C). Para Aa, os valores médios foram de 0,9920 para o resfriamento a 7 °C e 0,9956 para o resfriamento a 4 °C (Tabela 8).

Tabela 8 – Média e desvio-padrão para pH e Aa dos lotes de aves avaliados a temperatura de 4 e 7 °C

Lote (temperatura)	pH	Aa
1 (7 °C)	5,99a±0,00	0,9939a±0,0641
2 (7 °C)	5,90a±0,05	0,9920a±0,0009
3 (7 °C)	5,87a±0,00	0,9930a±0,1097
4 (4 °C)	6,02b±0,16	0,9943b±0,0068
5 (4 °C)	5,93b±0,07	0,9932b±0,0099
6 (4 °C)	6,17b±0,10	0,9956b±0,0017

As letras minúsculas na mesma coluna indicam que os valores diferem significativamente pelo teste Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Ao comparar as médias dos valores de pH e Aa, através do teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$), é possível observar que os valores diferiram

significativamente, indicando a possibilidade de terem sido influenciados pela variação da temperatura das carcaças, na saída do sistema de resfriamento (4 e 7 °C). Contudo, estes fatores físico-químicos não interferiram na contagem microbiana quando o sistema de resfriamento operou nas diferentes temperaturas, estando as amostras dentro da faixa de pH e Aa característicos deste tipo de produto (FORSYTHE, 2013).

A avaliação da temperatura, na saída do sistema de resfriamento, em ambas as condições de operação do sistema de resfriamento, foi realizada por controle estatístico de processo (Figuras 4 e 5).

Quando a operação do sistema de resfriamento foi regulada para obter produtos com temperatura de 7 °C, 16,92 % das amostras apresentaram temperatura superior a 7 °C (Figura 4).

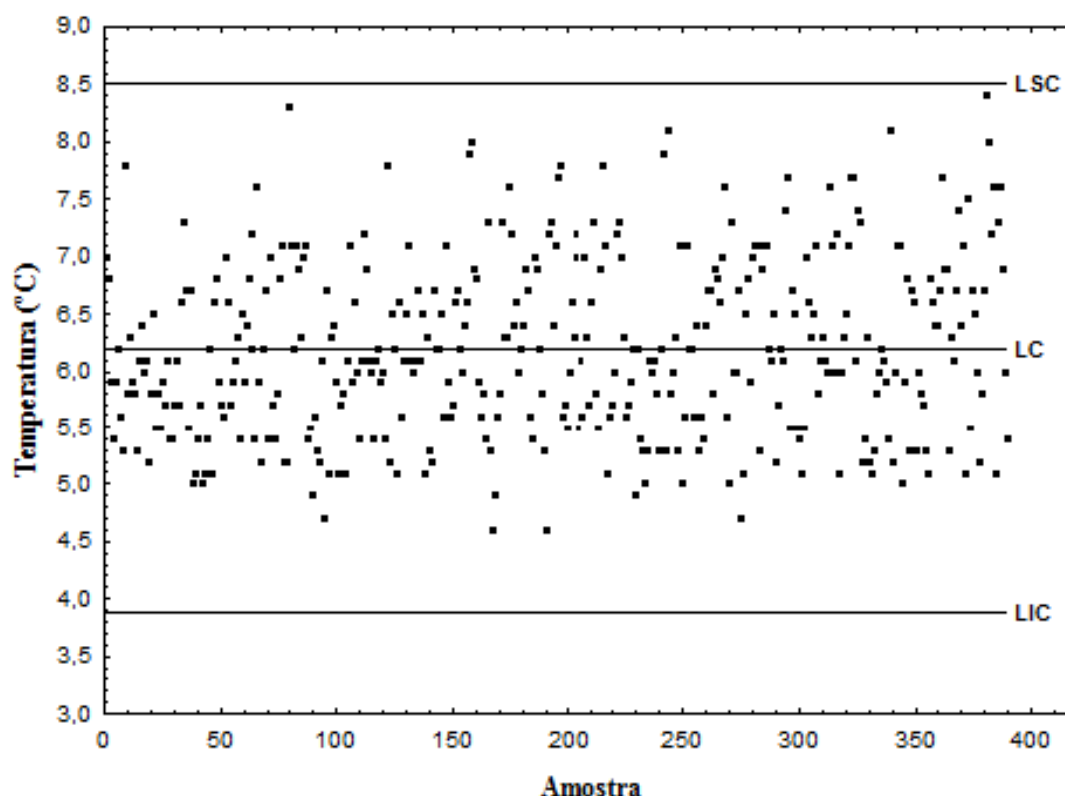


Figura 4 – Controle para sistema de resfriamento de carcaças operando a 7 °C. LSC é o limite superior de especificação de temperatura (LSC=8,516); LIC é o limite inferior de especificação de temperatura (LIC= 3,833) e LC é a linha de controle que representa a média dos dados (LC= 6,199).

Contrariamente aos resultados obtidos quando o sistema operou para obter produtos a 7 °C na saída do sistema de resfriamento, um número menor de amostras (7,69 %) não atingiu a temperatura de 4 °C para o sistema de resfriamento operando a 4 °C.

Para as duas condições de temperatura adotadas no sistema de resfriamento (4 e 7 °C), é possível observar que há aproximadamente o mesmo número de pontos acima e abaixo da linha de controle central (LC), não sendo identificada uma tendência dos produtos em atingir temperatura mais altas ou mais baixas que a temperatura média, indicando que o processo está sob controle estatístico. Ou seja, os valores de temperatura variaram em torno de uma média, assim como qualquer processo em grande escala que está sob controle.

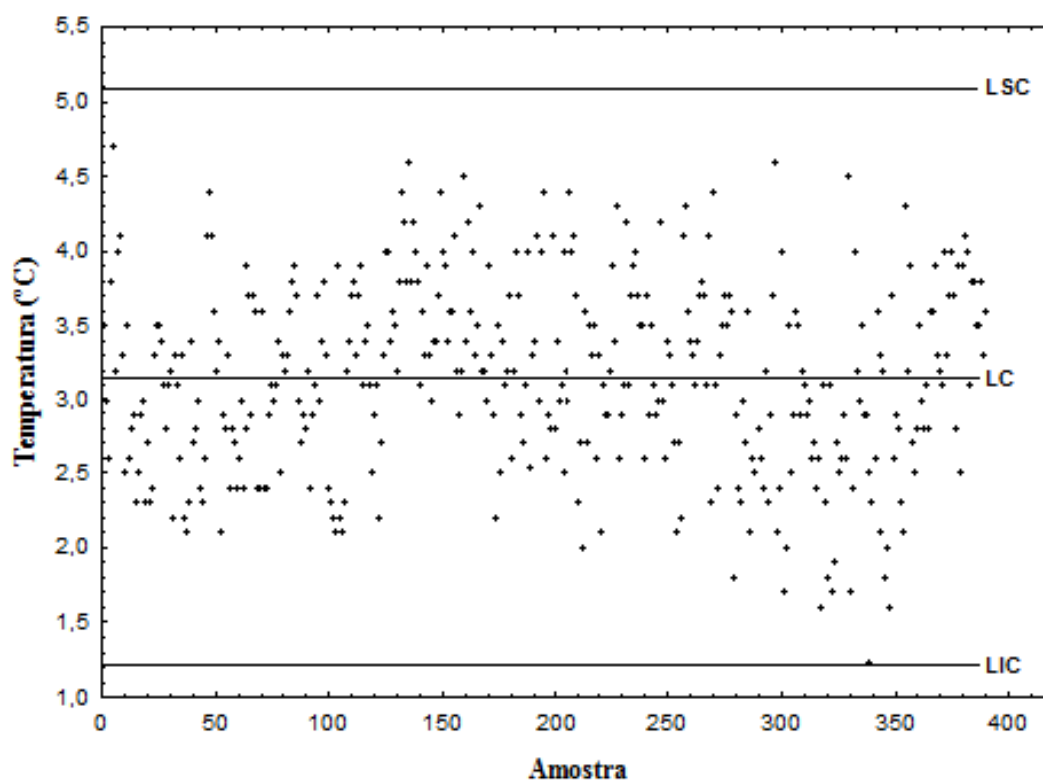


Figura 5 – Controle para sistema de resfriamento de carcaças operando a 4 °C. LSC é o limite superior de especificação de temperatura (LSC= 5,090); LIC é o limite inferior de especificação de temperatura (LIC= 1,208) e LC é a linha de controle que representa a média dos dados (LC= 3,149).

Para o sistema de resfriamento operando a 4 °C, o C_{pk} foi 0,361. No sistema de resfriamento operando a 7 °C, o C_{pk} foi 0,359. Considerando que valores de C_{pk} menores que 1 indicam que o processo avaliado não atende às especificações, mesmo estando sob controle estatístico, é possível dizer que as condições adotadas para o sistema de resfriamento não atendem às especificações de temperatura da carcaça ao final do processo. Diante disto, sugere-se a melhoria deste sistema, principalmente em relação à alteração das variáveis do sistema (quantidade de gelo, temperatura da água gelada, tempo de permanência das carcaças no sistema de resfriamento, massa destas carcaças e as condições de borbulho, cuja função é facilitar a transferência de energia).

Os níveis microbiológicos deste estudo encontram-se de acordo com padrões da empresa e com a legislação brasileira (BRASIL, 2011), inclusive para amostras obtidas à temperatura de 10 °C. Assim, pode-se dizer que a implantação de programas de qualidade auxiliam no controle dos processos de fabricação e refletem diretamente na incidência destes microrganismos (FOX et al., 2015; PACHOLEWICZ et al., 2015).

CONCLUSÃO

Os resultados indicam que para os microrganismos estudados o nível de contagem foram influenciados pela temperatura das carcaças na saída do sistema de resfriamento, para as condições e tipo de corte avaliado. Mesmo que as contagens tenham sido baixas, à medida que a temperatura foi aumentando, a contagem microbiológica também aumentou, embora a mesma tenha ficado dentro dos parâmetros estabelecidos pela indústria.

As baixas cargas microbianas relacionadas à *E. coli* e *S. aureus*, e a ausência de *L. monocytogenes* mensuradas demonstram quão importantes são

as medidas preventivas e o controle de riscos microbiológicos ao longo da linha de abate de frango.

O pH e Aa diferiram estatisticamente quando o sistema de resfriamento operou a 4 e 7°C, embora esta diferença não tenham impactado na contagem microbiológica.

Adicionalmente neste trabalho, foi possível constatar que as condições de operação do sistema de resfriamento podem ser revistas de modo que o parâmetro de temperatura dos produtos atenda aos requisitos da empresa e das legislações vigentes (4 e 7 °C).

REFERÊNCIAS

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. OAC Official Method 991.14 – Coliforms and *E. coli* Counts in Foods, Dry Rehydratable Film (Petrifilm Count Plate). AOAC, 2014.

_____. OAC Official Method 2004.02 - *L. monocytogenes* in Foods. VIDAS *L. monocytogenes* II(LMO2). AOAC, 2008.

_____. OAC Oficial Method 2003.11 3MTM Petrifilm™ Staph Express Count Plate Method for the Enumeration of *S.aureus* in Selected Types of Meat, Seafood, and Poultry. AOAC, 2011.

BELLUCO, S.; BARCO, L.; ROCCATO, A.; RICCI, A. *E. coli* and Enterobacteriaceae counts on poultry carcasses along the slaughterline: A systematic review and meta-analysis. **Food Control**, v. 60, p.269-280, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 668 de 19/09/2006. Diretrizes para preparação de Plano de APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. Brasília, 2006.

_____._____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves, 1998.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2º ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FOX, E.M.; WALL, P.G.; FANNING, S. Control of *Listeria* species food safety at a poultry food production facility. **Food Microbiology**, v.51, p.81-86, 2015.

HABIB, I.; DE ZUTTER, L.; HUFFEL, X.V.; GEERAERD, A.H.; UYTENDAELE, M. Potential of *Escherichia coli* as a surrogate indicator for postchill broiler carcasses with high *Campylobacter* counts. **Food Control**, v.25, n.1, p.96-100, 2012.

HUDSON, J. *Staphylococcus aureus*. In: DIKEMAM, M.; DEVINI, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2º ed. Nova Zelândia: Elsevier, v.5, 2014. p.820-825

HUEZO, R.; NORTHCUT, J.K, SMITH, D.P.; INGRAM, K.D. Effect of dry air or immersion chilling on recovery of bacteria from broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v.70, n.8, p.1829-1834, 2007.

ISO. The international Organization for Standardization. ISO 6887-1:1999. **Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions**, 1 ed., 1999.

MAROSO, M.T.D. **Efeito da redução de temperatura de carcaça de frango na multiplicação de microrganismos**. 2008. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

MONTEIRO, F.C.; SAMULAR, R.L.; MONTANHINI, M.T.M.; BITTENCOURT, J.V.M. Ocorrência de *L. monocytogenes* em abatedouro-frigorífico de suínos da região dos campos gerais. **Revista Geintec**, v.4, n.5, p.1583-1593, 2014.

PACHOLEWICZ, E.; SWART, A.; SCHIPPER, M.; GORTEMAKER, B.G.; WAGENAAR, J.A.; HAVELAAR, A.H.; LIPMAN, L.J. A comparison of fluctuations of *Campylobacter* and *E. coli* concentrations on broiler chicken carcasses during processing in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, v.205, p.119-127, 2015.

RODRIGUES, A.C.A.; PINTO, P.S.A.; VANETTI, M.C.D.; BEVILACQUAI, P.D.; PINTO, M.S.; NERO, L.A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1948-1953, 2008.

RODRIGUES, L.B.; SANTOS, L.R.; RIZZO, N.N.; TAGLIARI, V.Z.; TRENHAGO, G.; OLIVEIRA, A.P.; FERREIRA, D.; PILOTTO, F.; NASCIMENTO, V.P. *Salmonella* and *Listeria* from stainless steel, polyurethane and polyethylene surfaces in the cutting room of a poultry slaughterhouse. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.41, p.1-7, 2013.

ROSA, L.C. **Introdução ao Controle Estatístico de Processos**. Santa Maria: Editora UFSM, 2009.

SPERBER, W. H. HACCP and transparency. **Food Control**, v.16 n.6, p.505-509, 2005.

STEFANI, L.M.; BACKES, R.C.; FARIA, G.A.; BIFFI, C.P.; ALMEIDA, J.M.; SILVA, H.K.; NEVES, G.P.; LANGARO, A. Trimming and washing poultry carcass to reduce microbial contamination: A comparative study. **Poultry Science**, v. 93, n.12, p.3119–3122, 2014.

USDA. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service. Directive 6420.2 de 31 de Março de 2004. **Verification of procedures for controlling fecal material, ingesta, and milk in slaughter operations**, 2004.

VALERO, A.; PEREZ-RODRIGUEZ, F.P.; CARRASCO, E.; FUENTES-ALVENTOSAB, J.M.; GARCÍA-GIMENO, R.M.; ZURERA, G. Modelling the growth boundaries of *S. aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. **International Journal of Food Microbiology**, v.133, n.1-2, p.186-194, 2009.

ZWEIFEL, C.; STEPHAN, R. Microbial descontamination of poultry carcasses. In: DEMIRCI, A.; NGADI, M.O. **Microbial Descontamination in the Food Industry**: Novel methods and applications. Philadelphia: Woodhead Publishing, 2012, p.60-95.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho mostrou que a quantidade de *E. coli* (40 UFC.g⁻¹), *S. aureus* (70 UFC.g⁻¹) e a ausência de *L. monocytogenes* atendem tanto a legislação quanto os controles da empresa. Desta forma, pode-se dizer que para o corte de frango estudado não se faz necessário o aumento de custo de produção para este corte. De fato, o gasto monetário para se operar com sistema de resfriamento a 4 °C é maior já que uma maior quantidade de gelo precisa ser utilizada para atendimento aos parâmetros do sistema de resfriamento.

Estudos adicionais devem considerar outros tipos de corte de frango, visto que neste estudo apenas o filé de peito foi avaliado e, o tipo de corte pode influenciar nos resultados, como por exemplo, um corte que apresente a pele. Produtos que contem pele podem apresentar uma contagem bacteriana superior aos produtos sem pele. Sendo assim, os mesmos microrganismos podem ser estudados, com o objetivo de ampliar o conhecimento científico e subsidiar as tomadas de decisão da empresa parceira deste trabalho.

Ainda, outras investigações poderiam abordar outros tipos de microrganismos além dos que foram avaliados no presente. Estas novas avaliações seriam para microrganismos envolvidos no plano APPCC da empresa (*Salmonella* spp. e *Clostridium perfringens*) e aquele que tem gerado grande preocupação na comunidade científica e nas indústrias de alimentos, o *Campylobacter jejuni*.